



00387

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Variación fenotípica, aislamiento reproductivo y
ecofisiología de poblaciones silvestres de
especies de *Opuntia* en la porción sur del Desierto
Chihuahuense.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN
CIENCIAS (BIOLOGÍA)**

PRESENTA

ALEJANDRO MUÑOZ URIAS

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARÍA GUADALUPE PALOMINO HASBACH

CODIRECTOR DE TESIS:

DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Comité de sinodales:

Dra. María Guadalupe Palomino Hasbach

Dr. Eulogio Pimienta Barrios

Dra. Teresa Terrazas Salgado

Dr. Armando García Velázquez

Dr. Alejandro Casas Fernández

Dr. Alfonso Valiente Banuet

Dra. María del Carmen Mandujano

A mi madre y a mi Esposa de las cuales siempre he obtenido su apoyo incondicional.

A mis hijas Victoria Belén y Alejandra del Roció que han sido mi motivación para llevar a cabo este trabajo.

A la memoria de mi Abuela Margarita Pérez Llamas, que ha sido un ejemplo para mi por su tenacidad y enteraza.

Mis agradecimientos más sinceros

Dra. María Guadalupe Palomino Hasbach y al Dr. Eulogio Pimienta Barrios ya que siempre estuvieron orientándome y apoyándome durante todo el trabajo. Además, siempre conté con su apoyo académico y su amistad. En los momentos difíciles me motivaron, orientaron y hasta me regañaron por lo cual sin su ayuda no se hubiese concluido este trabajo.

Dr. Armando García Velázquez por su confianza y apoyo en el desarrollo de este trabajo, además por permitirme trabajar en su laboratorio.

Dra. Teresa Terrazas Salgado por su desinteresada ayuda durante la realización de este trabajo y especialmente en la asesoría de la parte estadística.

Al Dr. Alfonso Valiente Banuet, al Dr. Alejandro Casas Fernández, y a la Dra. María del Carmen Mandujano que aportaron muchas ideas en el desarrollo de mi tesis, y enriquecieron el trabajo.

A Martín Huerta Martínez, Alejandro Ramos Rodríguez, David Ochoa, Lucero Rocha, Dafne y al Tontoño C. J. quienes me acompañaron a los muestreos.

A la Secretaria de Educación Pública que mediante el Programa del Mejoramiento del Profesorado (**PROMEPE**) que mediante el anexo **P/PROMEPE UDG-98-15-01** me apoyó con su beca folio **UDG-47**.

RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo principal caracterizar aspectos citogenéticos y morfológicos en poblaciones aisladas de diferentes especies de *Opuntia*, representativas del subgénero *Opuntia*, en poblaciones fragmentadas. Para llevar a cabo el estudio se seleccionaron las localidades de El Rayo, Zacatecas; Paso del Cuarenta, Jalisco; Villa Hidalgo, Zacatecas y Laguna de Guadalupe, Guanajuato. En dichas localidades se encuentran creciendo de manera simpátrica las especies *O. robusta*, *O. streptacantha*, *O. leucotricha*, *O. joconostle*, *O. rastrera* y *O. cantabrigiensis* y están separadas entre sí de 28 a 110 km por terrenos agrícolas.

Las áreas seleccionadas presentan una temperatura promedio anual de 16.6°C existiendo poca diferencia de temperatura entre localidades ($\pm 1.34^\circ\text{C}$), mientras que la precipitación pluvial anual mostró mayor variación entre localidades ya que promedió 484 mm con una diferencia de 114 mm entre la localidad más seca y la más húmeda.

El trabajo se dividió en cuatro etapas: en la primera etapa se determinó los números cromosómicos de *O. cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. streptacantha* y *O. joconostle* en cuatro localidades aisladas para probar la hipótesis de que en el género *Opuntia* se producen poliploides de manera natural y algunos de ellos tienen diferente distribución espacial con respecto a sus progenitores diploides debido a que la ploidía favorece cambios adaptativos en las especies vegetales por lo tanto es probable que se observen diferentes citotipos entre especies distribuidos en las poblaciones aisladas de cada una de las especies. La segunda, consistió en determinar si la variación morfológica y anatómica presente en las especies de *Opuntia* son generadas por hibridación natural, si es así, se observará que los fenotipos de los híbridos tendrán características morfológicas intermedias entre los progenitores por lo cual se observará yuxtaposición entre las especies cuando se lleve a cabo un análisis discriminante entre las especies. Además, se evaluará la variación entre poblaciones que se encuentran aisladas de 32 a 100 km con la finalidad de observar si la plasticidad fenotípica presente entre poblaciones es resultado de un gradiente ambiental o si esta variación se debe al aislamiento geográfico; la tercera etapa consistió en hacer cruces entre poblaciones y evaluar la tasa de fructificación y producción de semillas de dos poblaciones de *Opuntia streptacantha* aisladas además se determinó su número cromosómico con el fin de probar la hipótesis de que si las poblaciones tienen diferentes niveles de ploidía estas podrían causar tasas bajas de producción de semillas y de fructificación sin embargo, si no se encuentran diferencias en el número cromosómico y se producen pocos frutos y semillas por la disminución de los tubos polínicos en la base del estilo se deberá al aislamiento precigótico conocido como incompatibilidad interespecífica que es común en poblaciones aisladas en las que se ha restringido el flujo genético; en la cuarta etapa se examinó la respuesta ecofisiológicas en dos estaciones de crecimiento (2000 y 2001) en una población silvestre de *Opuntia robusta*, en un ambiente rocoso, que fue expuesta a la aplicación del fungicida benlate por dos años al final de un periodo de sequía prolongada, con el fin de comprobar la siguiente hipótesis: La supervivencia y desarrollo de *O. robusta* en un ambiente semiárido rocoso puede ser fisiológicamente dependiente del establecimiento de la simbiosis de hongos-VA micorrízicos. Por consiguiente si el desarrollo de la simbiosis de las micorrizas en *O. robusta* es restringido por el benlate, los procesos fisiológicos básicos tal como fotosíntesis pueden ser afectados, en comparación con las plantas donde la simbiosis se desarrolla naturalmente, porque la asimilación de elementos críticos para la fotosíntesis tales como fósforo y agua pueden ser reducidos.

Los estudios citológicos revelaron que las especies de *Opuntia* analizadas mostraron diferentes niveles de ploidía por ejemplo *O. cantabrigiensis* fue diploide, *O. robusta* y *O. leucotricha* fueron tetraploides, *O. joconostle* y *O. rastrera* fueron hexaploides y *O. streptacantha* octoploide. No se encontró variación en el nivel de ploidía entre poblaciones.

La evaluación de la variación estructural en 17 caracteres anatómico-morfológico reveló diferencias fenotípicas entre las poblaciones estudiadas. Las variables que mostraron mayor variación en las especies analizadas fueron: grosor de la epidermis, colénquima, y longitud de estomas. Usando estas variables se encontró que la especie *O. cantabrigiensis* se muestra aislada en los gráficos de dispersión.

A través de cruces artificiales dentro y entre dos poblaciones de *Opuntia streptacantha* aisladas geográficamente se probó que existe aislamiento reproductivo en la cruce inter-poblacional y su cruce recíproca, pues se registró una baja frecuencia de tubos polínicos por flor en la base del estilo (94 y 15 respectivamente), en comparación con la cruce intra-poblacional (196) y el tratamiento testigo (209). De igual forma, los porcentajes de asentamiento de semillas fueron mayores en los tratamientos testigo y cruce intra-poblacional (53 y 58% respectivamente), que en las cruces inter-poblacionales y su cruce recíproca (32 y 21%). Estos datos proveen evidencia de incompatibilidad sexual en cruces de poblaciones de *O. streptacantha*, probablemente causado por el aislamiento geográfico de las poblaciones estudiadas.

El estudio del comportamiento ecofisiológico en una población de *O. robusta* durante 2000 y 2001, coincidió con la interfase final de un periodo prolongado de sequía que empezó en 1994 y terminó en 2001. Durante estos seis años la precipitación pluvial anual fue inferior a la precipitación pluvial promedio anual histórico (450 mm al año), por lo que las plantas formaron un número escaso de brotes jóvenes y raíces finas, lo cual se interpretó como un fenómeno de evasión para mitigar los efectos de la sequía prolongada. Durante 2001, debido a que la precipitación pluvial fue ligeramente superior a 500 mm, las plantas de *O. robusta* empezaron a formar brotes jóvenes y raíces finas. En el año 2000, la ausencia de raíces finas afectó el proceso de establecimiento de la simbiosis micorrícica, la cual se reestableció en el 2001, cuando las plantas empezaron la formación de raíces de lluvia.

La aplicación del fungicida Benlate durante 2000 y 2001 contribuyó aún más a reducir el establecimiento de la simbiosis micorrícica en las plantas de *O. robusta*, sin embargo, esta inhibición no afectó significativamente el contenido de agua y fósforo en los cladodios en comparación con el tratamiento testigo. La asimilación neta diaria de CO₂ no fue afectada significativamente en los meses de verano y otoño de 2001 y en los meses de junio a septiembre de 2001, aunque sí se redujo considerablemente la fotosíntesis en el mes de octubre de 2001, en comparación con el tratamiento testigo.

Concluimos que existe variación entre diferentes poblaciones de *Opuntia* que se ve reflejada en la anatomía y morfología de las plantas. Esta variación no es producida por cambios de niveles de ploidía entre poblaciones ni por hibridación dentro de esta zona, tampoco se observa relación entre los gradientes ambientales. Esta variación puede ser de origen genético puesto que en el caso de *O. streptacantha* observamos que existe aislamiento reproductivo postcigótico entre poblaciones que se encuentran aisladas por extensas áreas de cultivo. Además, se observó que por el incremento de la frontera agrícola se ha restringido a las nopaleras a suelos rocosos altamente estresantes (Inselbergs) en el cual la especie con mayor densidad es un tetraploide (*Opuntia robusta*) en lugar de las especies hexaploides u octoploides, contrario a las hipótesis de Haperag en la que se menciona que los altos poliploides se distribuyen en suelos más secos. Esta especie sobrevive en estos ambientes ya que en los periodos extremadamente secos no produce cladodios ni crecimiento de raíces, y no es dependiente de asociaciones como las micorrícicas.

ABSTRACT

The main aim of this work is to characterize cytogenetic, morphologic and ecophysiological aspects in fragmented populations of six species of *Opuntia*. The study was conducted in isolated *Opuntia* populations located in areas affected by the deforestation process, particularly in the localities of El Rayo, Zacatecas; Paso de Cuarenta, Jalisco; Villa Hidalgo, Zacatecas and Laguna de Guadalupe, Guanajuato. These populations are separated to each other by land cleared for agricultural purposes. Distances of isolation varied from 28 to 110 km. The most common *Opuntia* species located in the study sites are: *O. robusta*, *O. streptacantha*, *O. leucotricha*, *O. joconostle*, *O. rastrera* and *O. cantabrigiensis* commonly growing in sympatric conditions. The study area showed an average annual temperature of 16.6°C ($\pm 1.34^\circ\text{C}$). The average annual precipitation showed a higher degree of variation between localities. The annual average is 484 mm, but the differences between localities reach values close 114 mm among the driest and wettest area. The work consisted of four stages: the first was directed to determine whether differences in ploidy level between four populations of six species exist and if cytotypes are distributed in isolated populations each one of the species; the second, was oriented to determine the occurrence of morphological and anatomical differences in cladode between species are related to natural hybridization that it could be observed for juxtapositions between species in dispersion graph of discriminant analysis. Furthermore assess whether phenotypic plasticity between populations is related to climatic gradient or geographic isolation; the third was directed to learn about the effect of geographical isolation in the reproductive success of *Opuntia streptacantha*, the purpose was examine whether; crosses between plant of isolated population showing pre-zygotic isolation expressed by the inhibition of male gametophyte development at the stigmatic surface or/in the stylar tissue and consequently, decrease fruit set and seed set; and the fourth, ecophysiological responses were examined for two growing seasons in a wild population of *Opuntia robusta* in a rocky environment exposed to benomyl applications at the end of a prolonged drought. It was hypothesized that the survival and development of *O. robusta* in a rocky semiarid environment would be physiologically dependent on the establishment of mycorrhizal symbiosis by AM-fungi. Therefore, if the development of mycorrhizal symbiosis for *O. robusta* is restrained by benomyl, basic physiological process such as photosynthesis will be affected compared with those in plants for which the symbiosis develops naturally, because the uptake of critical elements for photosynthesis such as phosphorus and water will be reduced.

The cytological study revealed that the *Opuntia* species evaluated showed different ploidy levels, for example *O. cantabrigiensis* was diploid, *O. robusta* and *O. leucotricha* were tetraploid, *O. joconostle* and *O. rastrera* were hexaploid and *O. streptacantha* was octoploid. No differences in ploidy level were found between populations then no showing effects like morphological differences or reproductive isolation by different ploidy levels.

The evaluation of the structural variation in 17 anatomic and morphologic characters revealed phenotypic differences between populations. Variables that showed higher variation in the species studied were: epidermal and collenchyma thickness and stomata length. The use of these variables in a multivariate analysis revealed that *O. cantabrigiensis* is isolated in dispersion graphics. Through artificial crosses within and among two geographic isolated populations of *Opuntia streptacantha* was observed that inter-population crosses and their reciprocal showed a degree of reproductive isolation, expressed by the lower frequency of pollen tubes in flowers reaching the base of the style (94 and 15 respectively), compared with intra-population crosses (196) and the control treatment (209). Furthermore, the seed set percentages were higher in the control and intra-population cross treatments (53 and 58% respectively), than in inter-population cross and their reciprocal cross (32 and 21% respectively). These data provide evidence of sexual incompatibility in *O. streptacantha*, probably caused by the geographical isolation of populations.

The ecophysiological responses in a wild population of *Opuntia robusta* during 2000 and 2001 coincided with the final of drought that began in 1994 and finished in 2001. During these six years the pluvial annual precipitation was inferior to the precipitation pluvial annual historical average (450 mm) and affected the development of micorrhizae, mainly because *O. robusta* responded to extreme drought by arresting root development as a strategy to avoid the water loss. Therefore, the availability of colonizable host tissue (fine new roots) by AM-fungi was dramatically affected. During 2001, because the pluvial precipitation was lightly superior to 500 mm, the plants of *O. robusta* began to form young buds and fine roots. Rainfall created favorable conditions for growth during the summer and early autumn of 2001, expressed by both new cladodes and new roots. Under this circumstance, AM-fungi colonized the roots of *O. robusta* and benomyl was highly efficient in suppressing root colonization.

The suppression of root colonization by AM-fungi did not affect photosynthesis for *O. robusta* in 2000. In 2001 photosynthesis was unaffected from June to September, but a significant reduction in photosynthesis occurred in October. The reduction of daily carbon assimilation by benomyl in October occurred after the time of the year when the colonization of fine roots by AM-fungi was highest.

Inhibition of AM-fungal colonization using benomyl did not affect photosynthesis, water uptake or P uptake under dry and wet conditions, revealing that the development of *O. robusta* in a highly stressful environment might be regulated by other physiological strategies and mechanisms such as avoidance, tolerance, and CAM metabolism, in addition to the mycorrhizal symbiosis, particularly under prolonged drought.

We concluded that the variation between populations of *Opuntia* is reflected in plant anatomy and plant morphology. This variation is not produced for level ploidy changes between populations or hybridization in this zone neither relationship between the environmental gradients. This variation could be of genetic origin since *O. streptacantha* observed that precigotic reproductive isolation between populations isolated for extensive areas of cultivation exists. Also, the increment of the agricultural border has restricted to *Opuntia* prickly pears forests to rocky environments (Inselbergs) in which the species with high density is a tetraploid (*Opuntia robusta*) instead of hexaploids or octoploids species contrary to the Hagerap's hypothesis. This species endure to stressful environment because doesn't produce cladodes neither growth of roots, in periods of extreme drought for which *O. robusta* is not depend to mycorrhizal fungi.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. LITERATURA CONSULTADA.....	4
2. ANTECEDENTES.....	7
2.1. Origen de la familia Cactaceae.....	7
2.2. Distribución geográfica de la familia Cactaceae.....	8
2.3. Descripción del género <i>Opuntia</i>	9
2.3.1. Descripción de las especies estudiadas.....	10
2.3.1.1. <i>Opuntia cantabrigiensis</i>	10
2.3.1.2. <i>Opuntia joconostle</i>	11
2.3.1.3. <i>Opuntia leucotricha</i>	11
2.3.1.4. <i>Opuntia rastrera</i>	12
2.3.1.5. <i>Opuntia robusta</i>	12
2.3.1.6. <i>Opuntia streptacantha</i>	12
2.4. Distribución ecológica.....	14
2.5. Modelos de especiación.....	14
2.5.1. Poliploidía como mecanismo de especiación.....	15
2.5.1.1. Poliploidía en <i>Opuntia</i>	19
2.5.2. Hibridación como mecanismo de especiación.....	20
2.5.2.1. Hibridación en <i>Opuntia</i>	21
2.6. LITERATURA CITADA.....	23
3. NÚMEROS CROMOSÓMICOS DE LAS OPUNTIAS DE LA PORCIÓN SUR DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE Y SU COMPARACION CON RECUEENTOS CROMOSÓMICOS PREVIOS.....	29
3.1. RESUMEN.....	29
3.2. ABSTRACT.....	29
3.3. INTRODUCCIÓN.....	29
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.4.1. Descripción del área de estudio.....	32

3.4.2. Registro de números cromosómicos	33
3.4.3. Densidad de las especies de nopal dentro de las poblaciones.....	33
3.5. RESULTADOS.....	34
3.5.1. Registro de números cromosómicos.....	34
3.5.2. Densidad de poblaciones de diferentes especies de <i>Opuntia</i>	36
3.6. DISCUSIÓN.....	38
3.7. LITERATURA CITADA.....	41
4. VARIACIÓN ANATÓMICA Y MORFOLÓGICA ENTRE ESPECIES Y VARIACIÓN INTRAPOBLACIONAL DE <i>Opuntia</i> EN LA PORCIÓN SUR DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE.....	45
4.1. RESUMEN.....	45
4.2. ABSTRACT.....	45
4.3. INTRODUCCIÓN.....	45
4.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
4.4.1. Descripción del área de estudio.....	44
4.4.2. Descripción del material vegetativo.....	49
4.4.3. Evaluación morfológica y anatómica.....	49
4.4.4. Densidad de las especies de <i>Opuntia</i>	51
4.4.5. Análisis estadístico.....	51
4.5. RESULTADOS.....	52
4.5.1. Caracterización de la variación anatómica y morfológica entre especies silvestre de <i>Opuntia</i>	52
4.5.2. Caracterización de la variación anatómica y morfológica entre poblaciones de las especies de <i>Opuntia</i>	55
4.5.3. Densidad de Poblaciones de Diferentes Especies de <i>Opuntia</i>	61
4.6. DISCUSIÓN.....	64
4.7. LITERATURA CITADA.....	68
4.8. Apéndice.....	73

5. EVIDENCIAS DE AISLAMIENTO REPRODUCTIVO DURANTE LA FASE PROGÁMICA EN POBLACIONES AISLADAS DE <i>Opuntia streptacantha</i> (CACTACEAE)	83
5.1. RESUMEN	83
5.2. ABSTRACT	83
5.3. INTRODUCCIÓN	83
5.4. MATERIALES Y MÉTODOS	85
5.4.1. Descripción del área de estudio.....	85
5.4.2. Descripción del material vegetativo.....	85
5.4.3. Tratamientos de polinización.....	86
5.4.4. Registro de visitas florales.....	89
5.4.5. Recuento cromosómicos.....	89
5.5. RESULTADOS	89
5.5.1. Efecto de las cruzas intra e interpoblacionales.....	89
5.5.2. Comportamiento de los visitantes florales.....	92
5.5.3. Recuento cromosómico.....	92
5.6. DISCUSIÓN	92
5.7. LITERATURA CITADA	95
6. ECOFISIOLOGÍA DE <i>Opuntia robusta</i> EN UN AMBIENTE ROCOSO EN EL RAYO, ZACATECAS	99
6.1 ABSTRACT	99
6.2 INTRODUCTION	99
6.3 MATERIALS AND METHODS	100
6.4 RESULTS	101
6.5 DISCUSSION	102
6.6 LITERATURE CITED	104
7 DISCUSIÓN	106
7.1. LITERATURA CITADA	111

CAPÍTULO 1:

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El género *Opuntia* se encuentra distribuido de manera natural en todo el continente Americano, desde Alberta, Canadá hasta la Patagonia, Argentina (Shreve y Wiggins, 1964; Russell y Felker, 1987). Sin embargo, México muestra la mayor riqueza de este género con 83 de un total de 159 especies registradas, 56 de éstas son endémicas (Bravo, 1978; Pimienta-Barrios *et al.*, 1993; Hunt, 1999; Guzmán *et al.*, 2003).

Las regiones semiáridas del centro norte de México albergan la mayor diversidad de especies silvestres y cultivadas del subgénero *Opuntia*, de tal forma que estas regiones son consideradas como un centro de diversidad importante del género *Opuntia* (Marroquín *et al.*, 1964, Bravo, 1978, Pimienta Barrios, 1990, Rebman y Pinkava, 2001) Estas regiones semiáridas incluyen las partes territoriales de los estados de Guanajuato, Jalisco, Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes (Marroquín *et al.*, 1964, Rzedowski, 1978; Gibson y Nobel, 1986; Pimienta-Barrios y Muñoz-Urias, 1995). Asimismo, en esta región existe gran diversidad de variedades cultivadas puesto que por lo menos se enlistan 32 nombres de variedades cultivadas en las memorias del 6to congreso nacional y 4to congreso internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del nopal (1995) en Valdez *et al.*, 1995; Luna y Pimienta 1995 en conjunto con el manual intitulado principales cultivares mexicanos de nopal tunero (Fernández-Montes *et al.*, 2000).

La variabilidad presente en especies silvestres y cultivadas de este subgénero ha sido relacionada con fenómenos como la hibridación asociada a un incremento de poliploidía y aislamiento geográfico (Gibson y Nobel, 1986, Pimienta-Barrios y Muñoz-Urias, 1995; Scheinvar, 1995).

En el género *Opuntia* se han registrado ocho híbridos naturales algunos de los cuales conforman complejos híbridos ya que producen progenie fértil y se retrocruzan fácilmente, por lo general los híbridos tienen características morfológicas intermedias entre sus progenitores, por lo cuales se pueden estudiar a través de métodos morfológicos. Asimismo, existe la posibilidad de que los miembros de la serie *Streptacanthae* formen híbridos con facilidad (Bravo, 1978; Mayer *et al.*, 2000; Rebman y Pinkava, 2001; Griffith, 2001).

Por otro lado, el incremento de ploidía es un fenómeno común en este género, puesto que existen niveles de ploidía de $2x$ hasta $8x$; $x=11$ (Johansen, 1933; Katagiri, 1953;

Pinkava *et al.*, 1973; Yuasa *et al.*, 1973; Johnson, 1978 y Weedin y Powell 1978). Por otro lado, especies como *Opuntia engelmannii* subespecie *lindheimeri* muestra citotipos diploides, tetraploides y hexaploides (Weedin y Powell, 1978; Pinkava *et al.*, 1985 Grant y Grant, 1979). De los cuales se desconoce si estos citotipos se sujetan a un patrón biogeográfico. Por último el aislamiento geográfico en este género no se ha evaluado como fuente de variación a pesar de que en tiempos recientes, particularmente durante los años 70', se llevó a cabo una etapa de deforestación de áreas cubiertas por nopaleras, motivados por políticas oficiales que promovían el aumento de la frontera agrícola. Con el tiempo, este proceso de deforestación ha generado un alto grado de fragmentación en la zona, por lo que las poblaciones silvestres remanentes han quedado aisladas distribuyéndose de manera similar al modelo de islas geográficas. En muchos casos en ambientes altamente estresantes como el caso de los afloramientos rocosos, donde la sobrevivencia de estas poblaciones puede implicar diferentes estrategias fisiológicas para soportar déficit hídricos y carencia de nutrimentos.

En el presente trabajo se estudiará si existen diferencias en caracteres morfológico anatómicos entre poblaciones de diferentes especies de *Opuntia* que se encuentran aisladas de 32 a 100 km y se analizará cual es el fenómeno que es la fuente de variación, para tal efecto este trabajo se dividirá en diferentes etapas donde se tratará de comprobar las siguientes hipótesis.

En la primer etapa se determinó los números cromosómicos de *O. cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. streptacantha* y *O. joconostle* en cuatro localidades aisladas para probar la hipótesis de que en el género *Opuntia* se producen poliploides de manera natural y algunos de ellos tienen diferente distribución espacial con respecto a sus progenitores diploides debido a que la ploidía favorece cambios adaptativos en las especies vegetales, por lo tanto es probable que se observen diferentes citotipos entre especies distribuidos en las poblaciones aisladas de cada una de las especies.

La segunda etapa consistió en medir 27 variables morfológicas y anatómicas y las densidades de *O. cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. streptacantha*, *O. rastrera* y *O. robusta* con el fin de probar la siguiente hipótesis: si la variación morfológica presente en las especies de *Opuntia* es generada por hibridación natural, se observará que los fenotipos de los híbridos tendrán características morfológicas intermedias entre los progenitores, por

lo cual se observará yuxtaposición entre las especies cuando se lleve a cabo el análisis discriminante entre ellas. Además, se evaluará la variación entre poblaciones que se encuentran aisladas de 32 a 100 km, con la finalidad de observar la plasticidad fenotípica presente entre poblaciones y conocer si son resultado de un gradiente ambiental o si esta variación se debe al aislamiento geográfico y a la disminución del tamaño de las poblaciones.

La tercer etapa consistió en hacer cruza entre poblaciones para evaluar la tasa de fructificación y producción de semillas de dos poblaciones aisladas de *Opuntia streptacantha*. Además, se determinó su número cromosómico con el fin de probar la hipótesis de que si las poblaciones tienen diferentes niveles de ploidía, esto podría causar tasas bajas de producción de semillas y de fructificación. Sin embargo, si no se encuentran diferencias en el número cromosómico y se producen pocos frutos y semillas por la disminución de los tubos polínicos en la base del estilo, se deberá al aislamiento precigótico conocido como incompatibilidad interespecífica que es común en poblaciones aisladas en las que se ha restringido el flujo genético.

En la cuarta etapa se evaluó la respuesta ecofisiológica de una población de *Opuntia robusta* que se desarrolla en un ambiente rocoso, altamente estresante por su baja disponibilidad de agua, nutrientes y espacio. También se evaluó la dependencia fisiológica de poblaciones silvestres de *Opuntia robusta* a la simbiosis micorrízica por medio de la aplicación del fungicida Benlate con el fin de probar la siguiente hipótesis: La supervivencia y desarrollo de *O. robusta* en un ambiente semiárido rocoso puede ser fisiológicamente dependiente del establecimiento de la simbiosis de hongos-VA micorrízicos. Por consiguiente si el desarrollo de la simbiosis de las micorrizas en *O. robusta* es restringido por el benlate, los procesos fisiológicos básicos tal como fotosíntesis pueden ser afectados, en comparación con las plantas donde la simbiosis se desarrolla naturalmente, porque la asimilación de elementos críticos para la fotosíntesis tales como fósforo y agua pueden ser reducidos.

1.1. LITERATURA CONSULTADA

- Bravo, H. H. 1978.** *Las cactáceas de México*, Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Fernández-Montes, M. F., C. Mondragón-Jacobo, J. Luna-Vázquez, F. Gutiérrez-Acosta, L. A. Saenz-Quintero, J. A. Zegbe-Domínguez, S. De J. Méndez-Gallegos, y J. C. Martínez-González. 2000.** *Principales cultivares mexicanos de nopal tunero*. Publicación Técnica No 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México, D. F.
- Gibson, A. y P. S. Nobel. 1986.** *The cactus primer*. Harvard University Press. Cambridge. U. S. A.
- Grant, V. y K. A. Grant. 1979.** Hybridization and variation in the *Opuntia phaeacantha* group in Central Texas. *Botanical Gazette* 140: 208-215.
- Griffith, M. P. 2001.** A new Chihuahuan desert hybrid prickly pear, *Opuntia xrooneyi* (Cactaceae). *Cactus and Succulent Journal (U. S. A.)* 73 (6): 307-310.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003.** *Catálogo de cactáceas mexicanas*. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F.
- Hunt, D. 1999.** CITES *Cactaceae checklist*. Royal Botanic Gardens, Kew/ International Organization of Succulent Plant Study, England.
- Johansen, D. A. 1933.** Recent work on the cytology of cacti. *Cactus and succulent Journal (U. S. A.)* 4: 456.
- Johnson, M. A. T. 1978.** Diploid cytotypes in *Mammillaria prolifera* and three other *Mammillaria* species. *The Cactus and Succulent Journal (G. B.)* 40 (1): 9-12.
- Katagiri, S. 1953.** Chromosome numbers and polyploidy in certain cactaceae. *Cactus and Succulent Journal (U. S. A.)* 25: 141-143.
- Luna, V. J. Y E. Pimienta B. 1995.** Banco de germoplasma y selección de formas de nopal (*Opuntia* spp.) tunero. En: Pimienta-Barrios, E. C. Neri-Luna, A. Muñoz-Urias y F. M. Huerta-Martínez(comp.). *Conocimiento y aprovechamiento del nopal. Memorias del 6to congreso nacional y 4to congreso internacional*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.

- Marroquín, S. J., L. Borja, C. R. Velázquez y J. A. De la Cruz. 1964.** *Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México.* Publicación especial Número 2 INIF, SARH, México.
- Mayer, M. S., L. M. Williams y J. P. Rebman. 2000.** Molecular evidence for the hybrid origin of *Opuntia prolifera* (Cactaceae). *Madroño* 47 (2): 109-115
- Pimienta-Barrios, E. 1990.** *El nopal tunero.* Serie libros tiempos de ciencia, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
- Pimienta-Barrios, E., G. Barbera y P. Inglese. 1993.** Cactus pear international network: and effort for productivity and environmental conservation. *Cactus and Succulent Journal (U. S. A.)* 65 5: 225-229.
- Pimienta-Barrios, E., y A. Muñoz-Urias. 1995.** Domestications of opuntias and cultivated varieties. En: G. Barbera, P. Inglese, E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear.* FAO publications, Rome. pp: 58-61.
- Pinkava, D. J., M. G. Mc Leod, L. A. Mc Gill y R. C. Brown. 1973.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. II. *Brittonia* 25: 2-9.
- Pinkava, D. J., M. A. Baker, B. D. Parffit y M. W. Mohlenbrock. 1985.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. V. *Systematic Botany* 10 (4): 471-483.
- Rebman, J.P. y D. J. Pinkava, 2001.** *Opuntia* cacti of North America—an overview. *Florida Entomologist* 84 (4): 474-483.
- Russell, C. y P. Felker. 1987.** The prickly pear (*Opuntia* spp., Cactaceae): A source of human and animal food in semiarid regions. *Economic Botany* 41 (3): 433-445.
- Rzedowski, J. 1978.** *Vegetación de México.* LIMUSA, México, D. F.
- Scheinvar, L. 1995.** Taxonomy of utilized Opuntias. En: Barbera, G., P. Inglese, E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear.* FAO Plant Production and protection paper 132. Rome. pp: 20-27.
- Shreve F y I. L. Wiggins. 1964.** *Vegetation and flora of the Sonoran Desert,* Vol 1. Stanford University Press, Stanford, CA, U. S. A.

- Valdez, C. R. D. , C. Gallegos V. y F. Blanco M. 1995.** Agrupamiento jerárquico de veintinueve genotipos de *Opuntia* spp. Mediante características del fruto (tuna). *En:* Pimienta-Barrios, E. C. Neri-Luna, A. Muñoz-Urias y F. M. Huerta-Martínez(comp.). *Conocimiento y aprovechamiento del nopal. Memorias del 6to congreso nacional y 4to congreso internacional.* Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.
- Weedin, J. F. y A. M. Powell. 1978.** Chromosome numbers in Chihuahuan desert cactaceae in Trans-Pecos, Texas. *American Journal of Botany* 65 (5): 531-537.
- Yuasa, H. , H. Shimizu, S. Kashiwai y N. Kondo. 1973.** Chromosome numbers and their bearing on the geographic distribution in the subfamily Opuntioideae (Cactaceae). *Report of the Institute for Breeding Research, Tokyo University of Agriculture* 4: 1-10 (English summary).

CAPITULO 2:

ANTECEDENTES

2. ANTECEDENTES

2.1. Origen de la familia Cactaceae.

La familia Cactaceae es originaria del continente Americano, debido a la ausencia de restos fósiles no se puede establecer exactamente en que época se originaron (Earle, 1963; Bravo, 1978; Boke, 1980). Sin embargo, se trata de un grupo relativamente joven desde el punto de vista evolutivo (Mauseth, 1991). Pertenecen al orden Caryophyllales de las Centrospermas y están fuertemente emparentadas con la familia Aizoaceae y Portulacaceae, siendo esta última una familia primitiva de este orden (Cota y Wallace, 1996). Actualmente se reconocen tres centros de diversidad en el continente americano, uno al centro de México, el segundo en la región de los Andes y el tercero en Brasil (Rebman y Pinkava, 2001).

Con base en evidencias biogeográficas, Mauseth (1991) propone que el origen de esta familia ocurrió probablemente hace 90 ó 100 millones de años y su diseminación sucedió después de que América del Sur y África estuvieran totalmente separados hace 20 a 30 millones de años, pues este último continente sólo posee el género *Rhipsalis*, el cual se supone que fue diseminado a África por aves ya que sus frutos son muy atractivos para este grupo, o que llegaron a este continente a través de trozos de madera flotante (Nobel, 1994).

De acuerdo con la hipótesis de Buxbaum sobre el origen y evolución de las cactáceas (Bravo, 1978), los géneros mexicanos comprendidos taxonómicamente en las subfamilias Pereskioideae, Opuntioideae y Cereoideae tuvieron su origen en formas ancestrales del caribe que emigraron hacia el noroeste. De éstas, las especies del género *Pereskia* son las más primitivas, diferenciándose durante su trayecto en los géneros actuales que crecen en la mayoría de los tipos de vegetación de México. La aparición de los desiertos Chihuahuense y Sonorense data de hace 20 millones de años, por lo cual las adaptaciones de algunas especies, como las del género *Opuntia* a los ambientes áridos pueden ser relativamente recientes (Mauseth, 1991).

En estas zonas el género *Opuntia* presenta su variación más amplia, por lo que se considera a las zonas semiáridas como el centro de origen de los nopales, no obstante que estas plantas crecen en diferentes climas, suelos, altitudes y tipos de vegetación (Pimienta-Barrios, 1990).

2.2. Distribución geográfica del género *Opuntia*.

El género *Opuntia* se encuentra distribuido de manera natural en todo el continente Americano. Por ejemplo, en Alberta, Canadá se pueden encontrar las especies *Opuntia fragilis* y *Opuntia polyacantha*, mientras que en la Patagonia se encuentra *Opuntia australis*. Sin embargo, este género está asociado principalmente a áreas subtropicales. En México existen 83 de un total de 159 especies registradas para el género, de las cuales 56 son consideradas como endémicas (Guzmán *et al.*, 2003). Por lo cual, se considera que México es el país que alberga la mayor cantidad de especies de este género. Además, en el estado de Texas que colinda con Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, México crecen 38 especies endémicas (Grant y Grant, 1979).

Según Marroquín *et al.* (1964), en México las nopaleras silvestres se presentan en tres grandes regiones: **A) Nopaleras del noreste de México**, que comprende el norte de Tamaulipas, oriente de Nuevo León y parte de Coahuila, **B) Zona nopalera potosino-zacatecana** que incluye partes territoriales de los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Jalisco y Durango. En esta zona se encuentran tres tipos de nopaleras: silvestres, de solar y cultivadas (Marroquín *et al.*, 1964; Pimienta y Mauricio, 1989; Pimienta-Barrios, 1990), **C) Zona nopalera difusa**, que es la región más amplia, con menor densidad de individuos por hectárea, se extiende desde las partes calizas de San Luis Potosí, Zacatecas, Nuevo León, hasta Coahuila y partes áridas de Durango y Chihuahua.

El nopal (*Opuntia* spp.) fue introducido a España, donde poco tiempo después comenzó a naturalizarse, después fue llevado al norte de África y se extendió por Italia, Grecia y otros países del Mediterráneo (Russell y Felker, 1987). En la actualidad este género se encuentra diseminado en Portugal, Marruecos, Túnez, Grecia, Argelia, Australia, Sudáfrica, India, Sri Lanka, Madagascar, Fiji, Hawai, Nueva Caledonia, Sicilia, Islas Canarias, Java, Israel, Etiopía, Brasil y Chile (Bravo y Sánchez, 1991; Pimienta-Barrios, 1993).

El nopal fue introducido en los países de la cuenca del Mediterráneo al final del siglo XVI. Sin embargo, es en la isla de Sicilia donde ha alcanzado un desarrollo espectacular. Las primeras plantaciones se establecieron en el siglo XVII, en las planicies y en laderas de colinas alrededor de las ciudades de Catania y Palermo (Barbera *et al.*, 1992).

En las Islas Canarias, el nopal se adoptó como hospedero de la grana cochinilla y llegó a ocupar un papel importante en estas islas, ya que entre los años 1831 y 1847, el cultivo de este insecto desplazó completamente a los cultivos de la vid y cereales (Russell y Felker, 1987).

A principios del siglo XVII, el nopal fue llevado de España al norte de África, cuando los moros fueron expulsados (Russell y Felker, 1987). En Sudáfrica fue introducido por colonizadores europeos también en el siglo XVII (Brutsch, 1984). En Estados Unidos el nopal fue llevado por los misioneros franciscanos a principios del siglo XIX, quienes plantaron nopal en los traspatios de las misiones (Gibson y Nobel, 1986).

2.3. Descripción del género *Opuntia*.

Las plantas de este género se caracterizan por ser arborescentes, arbustivas o rastreras, con tronco bien definido o ramas desde la base. Estas pueden ser postradas o extendidas con cladodios aplanados y carnosos, usualmente de 30 a 40 cm, pero algunas veces llegan a 70 a 80 cm y de 18 a 25 cm de ancho. Presentan aréolas con espinas, gloquidios, tricomas, glándulas, flores u hojas caducas. Las aréolas son los órganos más característicos de las cactáceas y se les considera como homólogas a las yemas laterales de otras dicotiledóneas. Los meristemos de las dicotiledóneas dan origen a hojas, nuevos tallos y flores; las yemas de las cactáceas, o aréolas, diferencian también hojas reducidas o efímeras, flores, tallos, espinas (hojas modificadas esclerificadas), gloquidios, cerdas y tricomas, y a veces raíces (Bravo, 1978). Se encuentran situadas geométricamente a mayor o menor distancia, en forma de series de espirales y su densidad aumenta del centro del cladodio hacia los bordes, sobre todo en el extremo apical y pudieran ser usados como criterio de identificación taxonómica (Borrego y Burgos, 1986). Las espinas tienen la función de proteger a la planta de animales herbívoros y de los rayos solares por medio de la sombra que proyectan hacia el tallo, disminuyen la excesiva transpiración debido a que incrementan el grosor de la capa frontera, impidiendo además cambios bruscos de temperatura (Pimienta, 1990; Nobel, 1994). El número, forma, tipo, tamaño y color de las espinas, así como su arreglo en la aréola, son constantes en todos los individuos de una misma especie. Sin embargo, es frecuente que la espinación vaya transformándose con la edad de la aréola, ya sea por desprendimiento de algunas espinas o por el cambio en su

arreglo debido a la presión ejercida por el engrosamiento y endurecimiento de los tejidos vegetales (Bravo, 1978); las espinas pueden ser de color blanco, amarillas, rojizas hasta morenas y pueden estar solas o en grupos, los gloquidios pueden ser numerosos, las hojas son pequeñas, cilíndricas y caducas, las aréolas de la parte superior de los artículos son productoras de flores y frutos. Las flores generalmente son hermafroditas con perianto regular, los segmentos exteriores son verdes más o menos coloridos, gradualmente en transición con los segmentos interiores del perianto que son de color amarillo, anaranjado, rojo o hasta púrpúreo. Los estambres y el estilo son más cortos que los tépalos; los estambres son numerosos y el estilo termina en varios lóbulos cortos denominados lóbulos estigmáticos; su ovario es ínfero y presenta aréolas provistas de gloquidios. El fruto es una baya carnosa seca o jugosa, esférica u ovoide, con múltiples semillas aplanadas, duras y de color claro provistas de un arilo grueso; sus frutos son comestibles en particular los de las especies *O. lindheimeri*, *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* (Bravo, 1978; Sánchez, 1980; Sudzuki-Hills, 1995).

2.3.1. Descripción de las especies estudiadas .

2.3.1.1. Opuntia cantabrigiensis Lynch, Gard. Chron. III. 33:98. 1903

Nombre vulgar: Cuijo

Arbustos redondeados, de 1 a 2 m de altura. Artículos orbiculares hasta obovados, de 12 a 20 cm de longitud, de color verde azulado pálido; hojas de color verde claro. Aréolas distantes, grandes, con fieltro moreno. Espinas generalmente 3 a 6 pero a veces más. Algo extendidas, aciculares, amarillas con la base rojiza, de 1.5 a 5 cm de longitud; gloquidios numerosos, grandes, amarillentos o amarillo intenso, por lo general no agrupadas en haces. Flores de 5 a 6 cm de longitud, amarillentas con centros rojizos; aréolas superiores del ovario provistas de numerosas gloquidias y de largas cerdas amarillentas; lóbulos del estigma verdes. Fruto globoso, como de 4 cm de diámetro, de color púrpura y pulpa carmesí. Semillas numerosas, pequeñas, de 4 mm de diámetro (Bravo, 1978; Britton y Rose, 1963).

Distribución: MÉXICO: Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro y San Luis Potosí (Bravo, 1978; Guzmán *et al.*, 2003) (Fig. 2.1).

2.3.1.2. *Opuntia joconostle* F.A.C. Weber ex Diguët, Cact. Utiles Mex. 120.

1928.

Nombre vulgar: Tuna blanca, tempranilla, joconoxtle, xoconoxtle.

Arborescente, de 2 a 3 m de altura, con tronco bien definido, como de 20 cm de diámetro, grisáceo; ramificación abundante. Artículos pequeños, ovales, con epidermis glabra, de color verde claro, ligeramente amarillento. Espinas blancas. De longitud desigual. Flor amarilla. Fruto globoso, como de 2 cm de diámetro, de pulpa ácida de color rosa, ligeramente perfumada (Bravo, 1978).

Distribución: MÉXICO: Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Querétaro (Bravo, 1978, Guzmán *et al.*, 2003) (Fig. 2.1).

2.3.1.3. *Opuntia leucotricha* DC., Mém. Mus. Hist. Nat. 17:119. 1828.

Nombre vulgar: Duraznillo, duraznillo blanco, nopal colorado.

Arborescente, de 3 a 5 m de altura, ramosa. Tronco más o menos bien definido, cubierto por largos pelos setosos, blancos y flexibles, que miden hasta 8 cm de longitud. Artículos oblongos, de 15 a 30 cm de largo, pubescentes. Aréolas numerosas, próximas, distantes entre sí como 1 cm, pequeñas, con un haz de gloquidias amarillas en la parte superior y espinas en la inferior. Espinas setosas, delgadas, flexibles, blancas, de 1 a 3 en cada aréola, una mucho más larga, hasta de 3 cm de longitud. Flores incluyendo el ovario de 5 a 8 cm de largo, pétalos amarillos, anchos; ovario con aréolas numerosas, pequeñas, las superiores con cerdas largas como de 1 cm; filamentos blancos, estilo rojo; lóbulos del estigma 6, verdes. Fruto globoso, de 4 a 6 cm de longitud, blanco hasta de color púrpura, superficie, pubescente con numerosas aréolas pequeñas con fieltro blanco grisáceo y glóquidios amarillos, es aromático y comestible. Semillas orbiculares de 3 mm de diámetro, gris amarillentas (Bravo, 1978; Britton y Rose, 1963).

Distribución: MÉXICO: Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas (Bravo, 1978, Guzmán *et al.*, 2003) (Fig. 2.1).

2.3.1.4. *Opuntia rastrera* F.A.C: Weber in Bois, Dict. Horticult. 896. 1898.

Nombre vulgar: cuija, rastrero.

Rastrera, artículos circulares hasta obovados, los más grandes de unos 20 cm de diámetro, formando grandes cadenas. Espinas blancas con la base oscura, varias en cada aréola, la más larga de 4 cm de longitud; gloquidios amarillos. Flores amarillas. Fruto púrpura, ácido, obovado (Bravo, 1978; Britton y Rose, 1963).

Distribución: MÉXICO: Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Zacatecas (Bravo, 1978; Guzmán *et al.*, 2003) (Fig. 2.1).

2.3.1.5. *Opuntia robusta* H.L. Wendl. Ex Pfeiff, Enum. Diagn. Cact. 165.

1837

Nombre vulgar: Tapón, tapona, bartola.

Arbustiva, muy ramosa, no muy alta, de 1 a 2 m. Tronco más o menos bien definido. Artículos orbiculares algo oblongos, de 25 a 40 cm de longitud o más; muy robustos, color verde azulado claro. Aréolas grandes, distantes con gloquidios cafés. Espinas vigorosas, 2 a 12, como de 5 cm de longitud, morenas o amarillentas en la base y blancas hacia la extremidad. Flores grandes, amarillas de 5 a 7 cm de ancho, lóbulos del estigma verdes. Fruto globoso o elíptico, al principio más o menos tuberculado, de 7 a 8 cm de longitud, purpurino o con tinte verdoso (Bravo, 1978; Britton y Rose, 1963).

Distribución: MÉXICO: Chihuahua, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Zacatecas (Bravo, 1978, Guzmán *et al.*, 2003) (Fig. 2.1).

2.3.1.6. *Opuntia streptacantha* Lem., Cact. Gen. Nov. sp. 62. 1839.

Nombre vulgar: Tuna cardona, nopal cardón, nopal hartón.

Arborescente, muy ramoso, hasta de 5 m de altura. Tronco bien definido a veces como de 45 cm de diámetro. Artículos obovados hasta orbiculares, de 25 a 30 cm de longitud, color verde oscuro. Aréolas pequeñas, cercanas entre sí para este grupo. Espinas numerosas, extendidas, en ocasiones algunas de ellas algo adpresas, blancas; gloquidios color café rojizo, muy cortos. Flores de 7 a 9 cm de ancho, amarillas hasta anaranjadas; sépalos rojizos; filamentos verdosos o rojizos; lóbulos del estigma 8 a 12, verdes. Fruto globoso, de

5 cm de diámetro, de color rojo oscuro o a veces amarillento, en ambos casos por fuera y por dentro (Bravo, 1978, Guzmán *et al.*, 2003).

Distribución: MÉXICO: Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala, Zacatecas (Bravo, 1978; Britton y Rose, 1963; Pimienta-Barrios, 1990) (Fig. 2.1).



Figura 2.1. Distribución geográfica en México (nivel estatal) de las especies de *Opuntia* que se analizaron en este estudio. *O. cantabrigiensis* (▼), *O. joconostle* (△), *O. leucotricha* (□), *O. rastrera* (○), *O. robusta* (◆) y *O. streptacantha* (●), ■ área de estudio.

2.4 Distribución ecológica.

En general, este género se encuentra distribuido principalmente en regiones semiáridas, bosques mésicos, pastizales y bosques tropicales. (Rebman y Pinkava, 2001; Starmer *et al.*, 2003).

Las regiones donde se desarrollan las especies estudiadas se caracterizan por tener precipitaciones pluviales de 300 a 600 mm anuales y temperaturas promedio anuales entre 14 y 18°C (Rzedowski, 1978; Pimienta-Barrios, 1990). Sin embargo, pueden llegar a crecer en sitios con 100 mm de precipitación pluvial anual (Montaña y Breiner, 1988). Las especies estudiadas crecen preferentemente en suelos ígneos poco someros como en las laderas de los cerros de naturaleza volcánica hasta en los suelos aluviales contiguos. *Opuntia leucotricha* se encuentra desde los 1600 hasta 2000 m snm; *O. streptacantha* de los 1800 a 2000 m snm, *O. cantabrigiensis* y *O. robusta* desde los 1600 hasta > 2000 m snm (Borrego y Burgos, 1986).

2.5. Modelos de especiación.

Especiación, desde el punto de vista genético, se define como la evolución de mecanismos de aislamiento reproductivo dentro de una especie ancestral, resultando en dos o más especies descendientes (Futuyma, 1997). A partir del surgimiento de este concepto se han propuesto diferentes modelos de especiación de los organismos (Dobzhansky *et al.*, 1977; Grant, 1981; Futuyma, 1997 y Briggs y Walters 1997).

El modelo de especiación de Mayer (1963) está basado en tres grandes categorías: 1) Hibridación, en el que los híbridos se mantienen reproductivamente aislados de los progenitores; 2) especiación instantánea, la cual ocurre cuando los rearrreglos cromosómicos y los cambios en el nivel de ploidía promueven aislamiento reproductivo y consecuentemente la especiación y 3) la especiación gradual que tiene que ver con el aislamiento geográfico de las especies (Futuyma, 1997).

Sin embargo, Dobzhansky *et al.*, 1977, sugieren que la especiación se divide en dos grandes categorías, a) la especiación geográfica que involucra el aislamiento entre especies y b) la especiación cuántica, que se define como el surgimiento de una especie nueva a partir de una población periférica semi-aislada de la especie ancestral, generalmente ocurre

en pocas generaciones en este tipo de especiación se incluye la poliploidía y la hibridación (Dobzhansky *et al.*, 1977, Grant, 1981).

Posteriormente Briggs y Walters (1997) definen como especiación gradual a los eventos que se observan en la especiación geográfica y especiación instantánea a los fenómenos que se observan en la especiación cuántica.

Templeton (1982), por su parte, con base en criterios genéticos, menciona que la especiación se divide en transiliencia y divergencia. La primera consiste en los cambios que sufre la frecuencia de alelos por deriva genética cuando el tamaño poblacional es bajo; además en esta categoría incluye a la híbridos y rearrreglos cromosómicos. Mientras que el segundo se refiere a cambios producidos por aislamiento, el cual incluye desde aislamiento de hábitats hasta aislamiento geográfico (Futuyma, 1997).

Futuyma (1997) propone que la especiación se puede dar por cualquiera de las siguientes alternativas, especiación alopátrica, especiación alternativa a la alopátrica (simpátrica y parapátrica) y especiación por ploidía e hibridación. La tercer alternativa es frecuente en vegetales, mientras que en animales son eventos aislados (Dobzhansky *et al.*, 1977; Futuyma, 1997; Briggs y Walters 1997). De tal forma que los árboles evolutivos de las plantas pueden semejar a una red de ramas entrelazadas, a diferencia de los árboles evolutivos de los animales (Dobzhansky *et al.*, 1977), por tal motivo en esta revisión se dará énfasis a estos procesos.

2.5.1. Poliploidía como mecanismo de especiación.

El término poliploide se aplica a organismos que contienen más de dos juegos cromosómicos, y es considerado como uno de los procesos más comunes en la especiación vegetal (Futuyma, 1997).

En la actualidad existe debate por el número de las especies poliploides. Por ejemplo, Grant (1981) considera que el 47% de las angiospermas son poliploides con base en que las especies vegetales con números cromosómicos entre 7 y 9 pueden ser diploides; sin embargo, Masterson (1994), considera que las especies con número cromosómico de 9 son poliploides por lo que calcula que entre el 70 y 80% de las angiospermas presentarían este fenómeno (Leitch y Bennett, 1997, Levin, 2002).

Los poliploides se clasifican según su origen, en autopoliploides y alopoliploides o anfiploides. Los autopoliploides se refieren al incremento de dotaciones cromosómicas en una especie. En contraste, la formación de un alopoliploide involucra la hibridación de dos o más especies y la duplicación del número cromosómico (no necesariamente en este orden) (De Wet, 1979; Soltis y Soltis, 2000).

Las diferencias más notables entre los dos tipos de poliploides se observan en los autopoliploides, ya que están formados por más de dos juegos de cromosomas homólogos. Éstos tienden a formar multivalentes en metafase I y no migran a los polos o, migran en cantidades diferentes en anafase I, por lo que, se forman gametos desbalanceados; es decir, gametos con un número heterogéneo de cromosomas y, consecuentemente, se produce esterilidad. Por esta razón, este tipo de poliploidía es relativamente rara en la naturaleza (De Wet, 1979; Guerra, 1988).

En el otro extremo, los poliploides con altas fertilidades o casi normales son los anfiploides pares (poliploides de origen híbrido). En éstos, la meiosis (que ocurre durante la formación de sus gametos) es normal, debido a que solo se aparean los cromosomas homólogos pertenecientes a cada genoma en metafase I, y sólo se forman bivalentes. Algunos alopoliploides son atípicos en la naturaleza, debido a que las especies que no tienen ninguna homología cromosómica, probablemente presenten diferencias ecológicas y fisiológicas por lo que la viabilidad del híbrido es improbable (Guerra, 1988).

Una situación intermedia ocurre cuando el híbrido resultante de especies muy emparentadas presentan conjuntos de cromosomas parcialmente distintos entre sí. En la meiosis algunos segmentos cromosómicos se aparean y otros no, dando como resultado niveles variados de fertilidad. Sin embargo, en algunas especies existen genes que controlan el apareamiento entre homeólogos (cromosomas equivalentes entre especies diferentes y que derivan de un cariotipo ancestral común), impidiendo la formación de multivalentes. Un ejemplo clásico de esto es el trigo común (*Triticum aestivum*), que es un alopoliploide segmental, en el cual, no obstante la semejanza entre los genomas de sus especies ancestrales, todos los cromosomas se comportan como bivalentes, presentando fertilidad normal (Guerra, 1988).

Los autopoliploides fueron considerados anteriormente, desde el punto de vista evolutivo, como individuos poco adaptados debido a su baja fertilidad. Sin embargo, se ha

encontrado que puede haber meiosis regulares en autotetraploides. Por ejemplo, en *Dactylis* se presenta un fenómeno conocido como diploidización en el que se incrementa la frecuencia de bivalentes, al grado que se reducen las perturbaciones en anafase recobrando su balance en el número cromosómico (Lumaret, 1988). Además existen numerosos registros de plantas autoploiploides que forman poblaciones naturales con amplias distribuciones entre los que destacan *Atriplex confertiflora*, con niveles de ploidía o citotipos numéricos 2x, 4x, 6x, 8x y 10x, *Dalea formosa* con citotipos 4x y 6x y *Larrea divaricata* ssp. *tridentata* con citotipos 2x, 4x y 6x (Ramsey y Shemske, 1998; Levin, 2002).

La poliploidía se considera como un mecanismo de especiación, principalmente cuando ocurren cruza híbridas estériles y, posteriormente, cuando ocurre el incremento del nivel de ploidía no solo restablece la fertilidad de las plantas sino que también las aísla reproductivamente de sus progenitores. Además, se puede agregar que los poliploides muestran niveles de fijación de heterocigosidad mayores que los diploides, aparecen genotipos novedosos y cambian las interacciones núcleo citoplasma (Levin, 2002).

2.5.1.1. Poliploidía en *Opuntia*.

Los géneros *Opuntia* y *cylindropuntia* incluye especies 2x, 3x, 4x, 6x, 10x, 12x, 13x, 19x, 20x y 30x; x=11 (Johansen, 1933; Katagiri, 1953; Pinkava *et al.*, 1973; Yuasa *et al.*, 1973; Johnson, 1978 y Weedin y Powell 1978). Existen 159 especies del género *Opuntia*, de los cuales solo se conocen los números cromosómicos de 40 especies. Como se puede observar en la Tabla 2.1 los octoploides son el máximo nivel de ploidía, y representan el 22.5 % de las especies. El nivel de ploidía inferior es el diploide y se ha registrado en el 52.5 % de las especies, entre las cuales destacan algunas especies con reducido tamaño de cladodios y frutos como *O. microdasys*. Además, es común la presencia de citotipos numéricos ya que el 32.5% de las especies estudiadas presentan de dos a cuatro citotipos numéricos euploides. Por ejemplo, *O. polyacantha* posee individuos con citotipos 2x, 4x, 6x, y 8X *O. basilaris* 2x 3x, 6x y 8x (Tabla 2.1). Los poliploides de *O. robusta* y *O. basilaris* son autoploiploides debido a que tienden a formar multivalentes en metafase I de meiosis, además no existen diferencias morfológicas entre los diferentes citotipos y solo muestran incremento en tamaño debido al efecto de la ploidía, el posible

origen de este incremento de ploidía es la formación de gametos no reducidos (Sosa y Acosta, 1966; Pinkava y Parfitt, 1982; Pinkava *et al.*, 1977; 1992).

Por otro lado especies como *O. macrorhiza* y *O. leucotricha*, se consideran aloploidos por que a pesar de ser poliploides muestran meiosis regular formando bivalentes en metafase I de meiosis y se debe a que estas especies son de origen híbrido. (Katagiri, 1953).

Tabla 2.1. Niveles de ploidía en especies del subgénero *Opuntia*.

Especie*	Nivel de Ploidía	Localidad	Referencia
<i>Opuntia antillana</i>	2x	Puerto Rico	Spencer, 1955
<i>Opuntia arenaria</i>	2x	Estados Unidos	Pinkava <i>et al.</i> , 1985; 1992, Weedin y Powell, 1978
<i>Opuntia atrispina</i>	6x	Estados Unidos	Weedin y Powell, 1978
<i>Opuntia azurea</i>	6x	México	Yuasa <i>et al.</i> , 1973
<i>Opuntia basilaris</i>	2x, 3x, 6x, 8x	Estados Unidos	Pinkava <i>et al.</i> 1973; 1977; 1992; Pinkava y McLeod, 1971; Pinkava y Parfitt, 1982
<i>Opuntia borinquensis</i>	2x	Puerto Rico	Spencer, 1955
<i>Opuntia brasiliensis</i>	2x	Brasil	Stockwell, 1935
<i>Opuntia bravoana</i>	6x	México	Yuasa <i>et al.</i> , 1973
<i>Opuntia cantabrigiensis</i>	2x, 4x, 6x	México	Yuasa <i>et al.</i> , 1973; Pinkava y Parfitt, 1982
<i>Opuntia cochenillifera</i>	2x	Puerto Rico	Spencer, 1955
<i>Opuntia cochineria</i>	8x	México	Palomino y Heras, 2001
<i>Opuntia crassa</i>	8x	México	Flores-Hernández <i>et al.</i> , 1988
<i>Opuntia chaffeyi</i>	4x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1992
<i>Opuntia clorótica</i>	2x, 4x	Estados Unidos	Stockwell, 1935, Pinkava <i>et al.</i> , 1977; 1992; Parfit, 1980; Pinkava y McLeod, 1971; Pinkava y Parfitt, 1982
<i>Opuntia dillenii</i>	2x	Puerto Rico	Spencer, 1955
<i>Opuntia dillenii</i>	6x	N. D.	Pinkava <i>et al.</i> , 1992
<i>Opuntia durangensis</i>	4x	México	Yuasa <i>et al.</i> , 1973
<i>Opuntia edwardsii</i>	4x, 6x	Estados Unidos	Grant y Grant, 1979
<i>Opuntia engelmannii</i>	2x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1985
subespecie <i>lindheimeri</i>			
<i>Opuntia engelmannii</i>	2x, 4x, 6x	Estados Unidos	Grant y Grant, 1979; Weedin y Powell, 1978
subespecie <i>lindheimeri</i>			
<i>Opuntia erinaceae</i>	4x, 8x	Estados Unidos	Pinkava <i>et al.</i> , 1973; 1985; Pinkava y Parfitt, 1982
<i>Opuntia ficus-indica</i>	2x	Puerto Rico	Spencer, 1955;
<i>Opuntia ficus-indica</i>	2x, 8x	Estados Unidos	Weedin y Powell, 1978; Pinkava y

<i>Opuntia ficus-indica</i>	8x	México	McLeod, 1971; Pinkava <i>et al.</i> , 1973
<i>Opuntia hyptiacantha</i>	8x	México	Flores-Hernández <i>et al.</i> , 1988
<i>Opuntia joconostle</i>	6x	México	Palomino y Heras, 2001
<i>Opuntia leucotricha</i>	4x	México	Rodríguez-Meza, 2001
<i>Opuntia littoralis</i>	4x	México	Yuasa <i>et al.</i> , 1973; Katagiri, 1953
<i>Opuntia littoralis</i>	6x	Estados Unidos	Pinkava <i>et al.</i> , 1973; 1992
<i>Opuntia littoralis</i>	6x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1985
<i>Opuntia macrocentra</i>	2x, 4x	Estados Unidos	Pinkava <i>et al.</i> , 1973; 1977 1985; 1992; Weedin y Powell, 1978; Pinkava y McLeod, 1971
<i>Opuntia macrocentra</i>	2x	México	Stockwell, 1935, Pinkava y Parfitt, 1982
<i>Opuntia macrorhiza</i>	4x	Estados Unidos	Pinkava <i>et al.</i> , 1977; 1992; 1973; Pinkava y McLeod, 1971; Weedin y Powell, 1978.
<i>Opuntia megacantha</i>	6x, 7x, 8x	México	Flores-Hernández <i>et al.</i> , 1988; Yuasa <i>et al.</i> , 1973
<i>Opuntia microdasys</i> subespecie <i>microdasys</i>	2x	N.D.**	Katagiri, S. 1953
<i>Opuntia microdasys</i> subespecie <i>microdasys</i>	2x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1977
<i>Opuntia microdasys</i> subespecie <i>rufida</i>	2x	N. D.**	Katagiri, S. 1953
<i>Opuntia microdasys</i> subespecie <i>rufida</i>	2x	Estados Unidos	Weedin y Powell, 1978; Pinkava <i>et al.</i> , 1992
<i>Opuntia microdasys</i> subespecie <i>rufida</i>	2x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1977
<i>Opuntia orbiculata</i>	2x	México	Katagiri, 1953
<i>Opuntia oricola</i>	6x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1977
<i>Opuntia oricola</i>	6x	Estados Unidos	Pinkava <i>et al.</i> , 1973; 1992
<i>Opuntia phaeacantha</i>	2x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1985
<i>Opuntia phaeacantha</i>	4x, 6x	Estados Unidos	Weedin y Powell, 1978, Pinkava y McLeod, 1971, Pinkava <i>et al.</i> , 1973; 1977; 1985; 1992 Stockwell, 1935; Pinkava y Parfitt, 1982: Grant y Grant, 1979, Stockwell, 1935
<i>Opuntia phaeacantha</i>	6x	N.D.**	Parfitt, 1980
<i>Opuntia phaeacantha</i>	6x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1973; Stockwell, 1935; Pinkava y Parfitt, 1982
<i>Opuntia pilifera</i>	2x	México	Yuasa <i>et al.</i> , 1973; Katagiri, 1953
<i>Opuntia polyacantha</i>	2x, 4x, 6x, 8x	Estados Unidos Canadá	Pinkava <i>et al.</i> , 1977; 1992; Weedin y Powell, 1978; Stockwell, 1935, Sieren y Merrit, 1980
<i>Opuntia repens</i>	2x	Puerto Rico	Spencer, 1955
<i>Opuntia robusta</i>	2x, 4x, 6x	México	Sosa y Acosta, 1964, Yuasa <i>et al.</i> , 1973; Muñoz <i>et al.</i> , 1995; Pinkava,

			1985
<i>Opuntia spinulifera</i>	6x	México	Yuasa <i>et al.</i> , 1973
<i>Opuntia stenopetala</i>	2x	México	Pinkava <i>et al.</i> , 1977
<i>Opuntia streptacantha</i>	8x	México	Pinkava y Parfitt, 1982; Muñoz <i>et al.</i> , 1995; Palomino y Heras, 2001
<i>Opuntia strigil</i>	2x	Estados Unidos	Weedin y Powell, 1978; Pinkava <i>et al.</i> , 1992
<i>Opuntia tomentosa</i>	4x	N. D.**	Katagiri 1953
<i>Opuntia tomentosa</i>	4x, 8x	"Norte America"	Yuasa <i>et al.</i> , 1973
<i>Opuntia triacantha</i>	2x	Puerto Rico	Spencer, 1955
Variedades cultivadas			
Burrona,	8x	México	Muñoz <i>et al.</i> , 1995
Naranjona	8x	México	Muñoz <i>et al.</i> , 1995
Chapeada	8x	México	Muñoz <i>et al.</i> , 1995
Híbridos			
<i>O. chlorotica x O. macrocentra</i>	2x		Pinkava <i>et al.</i> , 1992
<i>O. littoralis x O. phaeacantha</i>	6x		Pinkava <i>et al.</i> , 1992
<i>O. occidentalis x O. demissa</i>	6x		Pinkava <i>et al.</i> , 1973
<i>O. chlorotica x O. phaeacantha</i>	4x		Parfitt, 1980

*Las sinonimias fueron revisadas con base en Guzmán *et al.*, 2003

**N. D. Localidad no determinada

2.5.2. Hibridación como mecanismo de especiación.

La hibridación es reconocida como otro de los factores más importantes en la evolución de plantas, cerca del 70% de las especies vegetales descienden de formas de hibridación interespecífica natural y, en ciertas familias, la hibridación intergenérica no es rara (Grant, 1981; Ellstrand *et al.*, 1999). La hibridación entre poblaciones con distintas normas de adaptaciones ecológicas pueden presentar tres tipos de consecuencias: 1) enriquecimiento genético del acervo de una especie a través de la introgresión (Dobzhansky *et al.*, 1977; Rajora, y Dancik. 2000; Ferdy y Austerlitz. 2002, Ye *et al.*, 2002); 2) producción de enjambres híbridos, tan amplios que quedan totalmente borrados los límites entre subespecies o incluso especies que antes podían diferenciarse claramente (Wendel *et al.*, 1991; Klier *et al.*, 1991; Kron *et al.*, 1993); uno de ellos se observa en *Opuntia phaeacantha* (Grant y Grant 1979) y 3) especiación híbrida, en la cual una porción de los

híbridos puede ser parcialmente fértil y estabilizarse y dar lugar a una población en la que sea posible el intercambio genético libre, pero que está aislada desde el punto de vista reproductivo de las poblaciones paternas (Dobzhansky *et al.*, 1977; Aparicio *et al.*, 2000; Smedmark *et al.*, 2003).

2.5.2.1. Hibridación en *Opuntia*.

La hibridación es un fenómeno común en el subgénero *Opuntia*, prueba de ello es el número de reportes de hibridación en el género. En Estados Unidos se han reportado 17 híbridos de los cuales ocho ocurren en *Opuntia (sensu stricto)* (Rebman y Pinkava, 2001; Griffith, 2001; Anderson, 2001).

En México, *O. robusta* aparentemente produce híbridos con frecuencia al cruzarse con *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. cantabrigiensis*; por otro lado, *O. occidentalis* es una especie de origen híbrido cuyos progenitores son *O. ficus-indica* y *O. littoralis*. De igual forma, *O. xvaseyi* es de origen híbrido entre *O. littoralis* y *O. phaeacantha*, así como miembros de la serie *Streptacanthae* (*O. megacantha*, *O. streptacantha*, *O. hyptiacantha* y *O. lasiacantha*), los cuales hibridizan fácilmente según evidencias morfológicas (Bravo, 1978, Pinkava *et al.*, 1992).

Los estudios de hibridación en el género *Opuntia* se han llevado a cabo debido a que los posibles híbridos poseen características intermedias en caracteres morfológicos como color y tamaño de las flores, forma, espinación y textura del fruto, reducción en la fertilidad del polen, proximidad de los posibles progenitores y, sobre todo, coincidencia en los periodos de floración. Con el uso de marcadores moleculares (i. e. RADPS) se ha confirmado la existencia de algunos híbridos de *Opuntia* (Mayer *et al.*, 2000, Rebman y Pinkava, 2001).

Algunas de las implicaciones de la hibridación entre especies puede ser la especiación, la formación de microespecies clonales o la formación de enjambres híbridos (Grant, 1981). La especiación ocurre cuando los progenitores tienen diferentes niveles de ploidía y el híbrido presentará nivel de ploidía intermedio al de los progenitores. Si este nivel de ploidía es par, los híbridos serán fértiles y estarán aislados reproductivamente de sus progenitores (Grant, 1981). Entre éstos destacan, *O. curvospina* (4x) que es un híbrido

con características morfológicas intermedias entre sus progenitores *O. phaeacantha* (6x) y *O. chlorotica* (2x) (Pinkava *et al.*, 1992).

Otro fenómeno observado en la hibridación y que es común en *Cylindropuntia* es la formación de microespecies clonales. Éstos son híbridos con nivel impar de ploidía, estériles pero tienen la capacidad de propagarse por agamosperma formando poblaciones de diversos tamaños. Un ejemplo es *Cylindropuntia xkelvinensis* que es un triploide híbrido resultante de *Cylindropuntia spinosior* y *Cylindropuntia fulgida* (Peebles, 1936; Benson, 1963; Baker y Pinkava, 1987). Otros híbridos son el triploide producido por la cruce entre *Cylindropuntia kleniae* y *Cylindropuntia leptocaulis* (Weedin y Powell, 1978; Pinkava y Parfitt, 1982) y en *Opuntia* un heptaploide originado por la cruce de *O. ficus-indica* (8x) x *O. phaeacantha* (6x) (McLeod, 1975).

Por último; existen enjambres híbridos, que se caracterizan por estar integrados por especies que producen híbridos fácilmente, el resultado de estas cruces son completamente fértiles y pueden retrocruzarse, o cruzarse con generaciones tardías, generando descendencia completamente fértil. Algunos ejemplos que ocurren en el género *Cylindropuntia* son *C. leptocaulis* que forma híbridos diploides con *C. acantocarpa*, *C. spinosior* (Parfitt, 1980; Pinkava *et al.*, 1985).

Un enjambre híbrido constituido por especies del género *Opuntia* compuesto por 22 poblaciones híbridas crece en la parte central de Texas, y está conformado por las especies *O. engelmannii*, *O. edwardsii* y *O. phaeacantha*; sus híbridos muestran altas fertilidades (70 a 93%) (Grant y Grant, 1979 y 1980).

2.6. LITERATURA CITADA

- Anderson, E.F. 2001.** *The cactus family*. Timber Press. Inc. U. S. A.
- Aparicio A., R. G. Albaladejo; M. Porrás y G. Cevallos. 2000.** Isozyme Evidence for natural hybridization in *Phlomis* (Lamiaceae): Hybrid origin of the rare *P. xmagaritae*. *Annals of Botany* 85 (1): 7-12.
- Baker, M. A. y D. J. Pinkava. 1987.** A cytological and morphometric analysis of a triploid apomict, *Opuntia xkelvinensis* (Subgenus *cylindropuntia*, Cactaceae). *Brittonia* 39 (3): 387-401.
- Barbera, G., F. Carimi, y P. Inglese. 1992.** Past and present role of the Indian-fig prickly pear [*Opuntia ficus indica* (L.) Miller, Cactaceae] in the agriculture of Sicily. *Economic Botany* 46 (1): 10-20.
- Benson, L. 1963.** *The cacti of Tucson, Arizona*. The University of Arizona Press, Tucson Arizona, U. S. A.
- Boke, N. H. 1980.** Developmental morphology and anatomy in Cactaceae. *Bioscience* 30 (9): 605-610.
- Borrego-Escalante, E y N. Burgos-Vázquez. 1986.** *El nopal*. Ed. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila México.
- Bravo, H. H. 1978.** *Las cactáceas de México*. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Bravo, H. H. y H. Sánchez. M. 1991.** *Las Cactáceas de México*. Vol. III. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Briggs, E. y S. M. Walters 1997.** *Plant variation and evolution*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Britton, N. L., y J. N. Rose. 1963.** *The cactaceae descriptions and illustrations of plant of cactus family*. Dover Publications, Inc. Nueva York, U. S. A.
- Brutsch, O. M. 1984.** Prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) cultivation in Southern Africa. In: *Symposium on Agricultural Use of Cactaceae. Prospects and Problems* International Organization for Succulent Plant Study, Frankfurt.
- Cota, J. H. y R. S. Wallace. 1996.** La citología y la sistemática molecular en la familia cactaceae. *Cactáceas y suculentas mexicanas* 41 (2): 27-46.

- De Wet, J. M. J. 1979.** Origins of polyploids. In: Lewis, W. H. (ed.). *Polyploidy biological relevance*. Plenum Press: New York and London.
- Dobzhansky, T., F. J. Ayala, G. L. Stebbins y J. W. Valentine. 1977.** *Evolución*. Omega, Barcelona España.
- Earle, W. H. 1963.** Cacti of southwest. *Desert Botanical Garden of Arizona* 4: 5-10.
- Ellstrand, N. C., H. C. Prentice y J. F. Hancock. 1999.** Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review in Ecology and Systematics* 30: 539–63.
- Ferdy J. B, y F. Austerlitz. 2002.** Extinction and introgression in a community of partially cross-fertile plant. *The American Naturalist* 160 (1): 74-86.
- Flores-Hernández, A., F. Borrego-Escalante, H, Gómez Contreras y A. López Benítez. 1988.** Variabilidad y estudio cromosómico del nopal (*Opuntia* spp.). *Cactáceas y suculentas Mexicanas* XXXIII:91-97.
- Futuyma, D. J. 1997.** *Evolutionary biology*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland Massachusetts, U. S. A.
- Gibson, A. C. 1973.** Comparative anatomy of secondary xylem in cactoidae (Cactaceae). *Biotropica* 5 (1): 29-65.
- Gibson, A. y P. S. Nobel. 1986.** *The cactus primer*. Harvard University Press. Cambridge. U. S. A.
- Grant, V. 1981.** *Plant speciation*. Columbia University Press. New York, U. S. A.
- Grant, V. y K. A. Grant. 1979.** Hibridization and variation in the *Opuntia phaeacantha* group in Central Texas. *Botanical Gazette* 140: 208-215.
- Grant, V. y K. A. Grant. 1980.** Clonal microspecies if hybrid origin of *Opuntia lindheimeri* group. *Botanical Gazette* 141: 101-106.
- Griffith, M. P. 2001.** A new Chihuahuan desert hybrid prickly pear, *Opuntia xrooneyi* (Cactaceae). *Cactus and Succulent Journal (U. S. A.)* 73 (6): 307-310.
- Guerra, M. S. 1988.** *Introdução à Citogenética Geral*. Ed. Guanabara. Río de Janeiro, Brasil.
- Guzmán, U., S. Arias, P. Dávila. 2003.** *Catálogo de cactáceas mexicanas*. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F.

- Hernández, H. M. y H. Godínez A. 1994.** Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana* 26:33-52.
- Johansen, D. A. 1933.** Recent work on the cytology of cacti. *Cactus and succulent Journal (U. S. A.)* 4: 456.
- Johnson, M. A. T. 1978.** Diploid cytotypes in *Mammillaria prolifera* and three other *Mammillaria* species. *The Cactus and Succulent Journal (G. B.)* 40 (1): 9-12.
- Katagiri, S. 1953.** Chromosome numbers and polyploidy in certain cactaceae. *Cactus and Succulent Journal (U. S. A.)* 25: 141-143.
- Klier, K. M. J. Leoschke, y J. F., Wendel. 1991.** Hybridization and Introgression in White and Yellow Ladyslipper Orchids (*Cypripedium candidum* and *C. pubescens*) *The Journal of Heredity* 82 (4): 305-319.
- Kron, K. A., L. M. Gawn y M. W. Chase. 1993.** Evidence for introgression in azaleas (*Rhododendron*; Ericaceae): chloroplast DNA and morphological variation in a hybrid swarm on Stone Mountain, Georgia. *American Journal of Botany* 80 (9): 1095-1099.
- Leitch, I. J. y M. D. Bennett. 1997.** Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Science* 2 (12): 470-476.
- Levin, D. A. 2002.** *The role of chromosomal change in plant evolution.* Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press. New York, U. S. A.
- Lumaret, R. 1988.** Cytology, genetics and evolution in the genus *Dactylis*. *Critical Reviews in Plant Sciences* 7: 55-91.
- Marroquín, S. J., L. Borja, C. R. Velázquez y J. A. De la Cruz. 1964.** *Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México.* Publicación especial Número 2 INIF, SARH, México.
- Masterson, J. 1994.** Stomatal size in fossil plants—Evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* 264, 421-424.
- Mauseth, J. D. 1991.** Continental drift, climate and evolution of cacti. *Cacti and Succulent Journal (U. S. A.)* 62: 302-308.

- Mayer, M. S., L. M. Williams y J. P. Rebman. 2000.** Molecular evidence for the hybrid origin of *Opuntia prolifera* (Cactaceae). *Madroño* 47 (2): 109-115.
- Mc Leod, M. G. 1975.** A new hybrid freshly fruited prickly-pear in California. *Madroño* 23: 96-98.
- Montaña, C. y R. F. Breimer. 1988.** Major vegetation and environment units. En: Montaña, C. y R. F. Breimer (Ed.). *Estudio Integrado de los recursos vegetación, suelo y agua en la reserva de la Biosfera de Mapimi I. Ambiente natural y humano.* Instituto de Ecología . México D. F.
- Nobel, P. S. 1994.** *Remarkable agaves and cacti.* Oxford University Press. New York. U. S. A.
- Parffit, B. D. 1980.** Origin of *Opuntia curvospina* (Cactaceae). *Systematic Botany* 5 (4): 408-418.
- Peebles, R. H. 1936.** A natural hybrid in genus *Opuntia*. *Journal of Cactus and succulent (U. S. A.)* 7: 99-101.
- Pimienta, E. B. y L. Mauricio. 1989.** Variación en componentes del fruto maduro entre formas de nopal (*Opuntia* spp.) tunero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 12: 183-196.
- Pimienta-Barrios, E. 1990.** *El nopal tunero.* Serie libros tiempos de ciencia, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
- Pimienta-Barrios, E. 1993.** El nopal (*Opuntia* spp.): Una alternativa ecológica productiva para las zonas áridas y semiáridas. *Ciencia* 44: 339-350.
- Pinkava, D. J. y B. D. Parffit. 1982.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. IV. *Bulletin of Torrey Botanical Club* 109 (2): 121-128.
- Pinkava, D. J., B. D. Parffit, M. A. Baker y R. D. Worthington. 1992.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. VI with nomenclatural changes. *Madroño* 39 (2): 98-113.
- Pinkava, D. J., M. A. Baker, B. D. Parffit y M. W. Mohlenbrock. 1985.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. V. *Systematic Botany* 10 (4): 471-483.

- Pinkava, D. J., M. G. McLeod, L. A. McGill y R. C. Brown. 1973.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. II. *Brittonia* 25: 2-9.
- Rajora, O. P. y B. P. Dancik. 2000.** Population genetic variation, structure, and evolution in Engelmann spruce, white spruce, and their natural hybrid complex in Alberta. *Canadian Journal of Botany* 78 (6): 768-780.
- Ramsey, J. y D. W. Schemske. 1998.** Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review in Ecology and Systematic* 29:467-501.
- Rebman, J. P. y D. J. Pinkava, 2001.** *Opuntia* cacti of North America—an overview. *Florida Entomologist* 84 (4): 474-483.
- Rodríguez Mesa, J. M. 2001.** *Caracterización isoenzimática, citológica y morfológica de especies e híbridos interespecíficos de nopal tunero (Opuntia spp.)*. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados.
- Russell, C. y P. Felker. 1987.** The prickly pear (*Opuntia* spp. , Cactaceae): A source of human and animal food in semiarid region. *Economic Botany* 41 (3): 433-445.
- Rzedowski, J. 1978.** *Vegetación de México*. LIMUSA, México, D. F.
- Sánchez, S. O. 1980.** *Flora del valle de México*. Ed. Herrero. México, D. F.
- Scheinvar, L. 1995.** Taxonomy of utilized *Opuntias*. En: Barbera, G., P. Inglese, E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO Plant Production and protection paper 132. Rome. pp: 20-27.
- Smedmark, J. E. E., T. Eriksson, R. C. Evans y C. S. Campbell. 2003.** Ancient allopolyploid speciation in *Geinae* (Rosaceae): Evidence from nuclear granule-bound starch synthase (GBSSI) gene sequences. *Systematic Biology* 52 (3): 374-385.
- Starmer, W. T., R. A. Schmedicke y M. Lachance. 2003.** The origin of the cactus-yeast community. *FEMS Yeast Research* 3 (4): 441-448.
- Soltis, P. S. y D. E. Soltis. 2000.** The role of genetic and genomic attributes in success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (13): 7051-7057.
- Sosa, R. y A. Acosta. 1966.** Poliploidia en *Opuntia* spp. *Agrociencia* 1: 100-106.

- Sudzuki-Hills, F. 1995.** Anatomy and Morphology. En: Barbera, G., P. Inglese, E. Pimienta-Barrios. *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO Plant Production and protection paper 132. Rome. pp: 28-35.
- Weedin, J. F. y A. M. Powell. 1978.** Chromosome numbers in Chihuahuan desert cactaceae in Trans-Pecos, Texas. *American Journal of Botany* 65 (5): 531-537.
- Wendel, J. F., J. Mc. D Stewart y J. H. Rettig. 1991.** Molecular evidence for homoploid reticulate evolution among Australian species of *Gossypium*. *Evolution* 45: 694-711.
- Ye, T. Z., R. Yang y F. C. Yeh. 2002.** Population structure of a lodgepole pine (*Pinus contorta* and jack pine *P. banksiana*) complex as related by random amplified polymorphic DNA. *Genome* 45 (3): 530-540.
- Yuasa, H., H. Shimizu, S. Kashiwai y N. Kondo. 1973.** Chromosome numbers and their bearing on the geographic distribution in the subfamily Opuntioideae (Cactaceae). *Report of the Institute for Breeding Research, Tokyo University of Agriculture* 4:1-10 (English summary).

CAPÍTULO 3:

NÚMEROS CROMOSÓMICOS DE LAS OPUNTIAS DE LA PORCION SUR DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE Y SU COMPARACIÓN CON REGISTROS CROMOSÓMICOS PREVIOS

En preparación para Acta Botánica Mexicana

NÚMEROS CROMOSÓMICOS DE LAS OPUNTIAS DE LA PORCIÓN SUR DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE Y SU COMPARACIÓN CON RECUEENTOS CROMOSÓMICOS PREVIOS

3.1. RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron los números cromosómicos de las especies *Opuntia cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. streptacantha* y *O. joconostle*, que crecen de forma simpátrica o parapátrica en la porción sur del desierto Chihuahuense.

El objetivo fue comparar los números cromosómicos entre poblaciones y con registros cromosómicos previos y determinar si existen citotipos poliploides en la porción sur del Desierto Chihuahuense, así como en otras zonas donde éstas se distribuyen. Los números cromosómicos fueron determinados en ápices radicales de tres individuos de seis especies de *Opuntia* en las localidades de El Rayo, Zacatecas, Villa Hidalgo, Zacatecas, Villa de Guadalupe, Guanajuato y Paso de Cuarenta, Jalisco. No se observó variación en el nivel de ploidía entre las especies por lo cual se registró a *O. cantabrigiensis* como diploide ($2n=2x=22$), *O. leucotricha* y *Opuntia robusta*, resultaron tetraploides ($2n=4x=44$). Las especies *O. rastrera* y *O. joconostle* son hexaploides ($2n=6x=66$), mientras que *O. streptacantha* resultó ser octoploide ($2n=2x=88$). Con base a estos resultados concluimos que no existe variación en los números cromosómicos entre las poblaciones, sin embargo, *O. cantabrigiensis* es un citotipo numérico diferente al registrado en trabajos anteriores, y en *O. rastrera* es el primer registro de números cromosómicos para dicha especie.

3.2. ABSTRACT

Chromosomal numbers of the species *Opuntia rastrera*, *O. robusta*, *O. cantabrigiensis*, *O. joconostle*, *O. leucotricha* and *O. streptacantha* growing sympatric or parapatric conditions in the Southern Chihuahuan Desert were investigated. The goal was to compare these populations and previous chromosomal numbers to determine if polyploid cytotypes in the South portion of the Chihuahuense Desert exist, as well as in other zones where these species are distributed. The chromosomal numbers were determined in radical apices of three individuals of six species of *Opuntia* in El Rayo, Zacatecas, Villa Hidalgo, Zacatecas, Villa de Guadalupe Guanajuato and Paso de Cuarenta, Jalisco. Variation in ploidy level within species was not observed. *O. cantabrigiensis* was diploid ($2n=2x=22$), *O. leucotricha* and *O. robusta*, were tetraploid ($2n=4x=44$). *O. rastrera* and *O. joconostle* were hexaploid ($2n=6x=66$), whereas *O. streptacantha* was octoploid ($2n=2x=88$). We conclude, that no showed different cytotypes between populations. However, *O. cantabrigiensis* is a different number cytotype, and chromosome number of *O. rastrera* is the first record.

3.3. INTRODUCCIÓN

En la familia Cactaceae se considera que los principales mecanismos de evolución, son la hibridación, poliploidización y/o apomixis particularmente en los géneros *Opuntia*, *Mammillaria* y *Echinocereus*. En el género *Opuntia* y *cylindropuntia* se observan amplia variación en el nivel de ploidía ($2x$, $3x$, $4x$, $6x$, $10x$, $12x$, $13x$, $19x$, $20x$ y $30x$; $x=11$) (Johansen, 1933; Stockwell, 1935; Katagiri, 1953; Pinkava *et al.*, 1973; Yuasa *et al.*, 1973; Pinkava *et al.*, 1977; Jonhson, 1978; Weedon y Powell 1978). Sin embargo, existen algunos géneros donde la poliploidización no ha sido tan extensa como en los pertenecientes a los de las subtribus *Pereskioideae* y *Cactoideae* (excepto en *Mammillaria* y *Echinocereus*)

donde la mayoría de sus especies son diploides Remski, 1954; Jonhson, 1978; Cota y Philbrick, 1994.

Existen dos tipos de ploidía las cuales tiene importantes repercusiones ecológicas y evolutivas, la alopoloidía consiste en la duplicación de los números cromosómicos en híbridos naturales reconstituyendo así su fertilidad, por lo cual algunos alopoloides pueden comportarse como especies nuevas (Grant, 1989; Leitch y Bennet, 1997) esta consiste en que el incremento de ploidía se origina por la fecundación de gametos no reducidos dentro de una misma especie, o por duplicación de números cromosómicos de las células meristemáticas (De Wet, 1979).

Los efectos del incremento de poliploidía en los autoploides consiste en que las plantas incrementan el tamaño de sus células y consecuentemente sus órganos, otro de los efectos es el cambio de su tolerancia ecológica en comparación con sus progenitores diploides, algunos poliploides son más tolerantes o más susceptibles a las temperaturas bajas, pueden crecer en ambientes más xéricos o pueden tener diferente tolerancia a la luz, (Lewis, 1967; Brammel and Semple, 1990; Hardy *et al.*, 2000, Stuessy *et al.*, 2004) por lo cual es común que algunos poliploides incrementan sus áreas de distribución, principalmente en lugares donde los progenitores diploides no pueden sobrevivir (Levin, 2002).

En el género *Opuntia* las especies *Opuntia leucotricha* y *O. macrorhiza* son alopoliploides (Katagiri, 1953) Mientras que *O. robusta* y *O. basilaris* son autoploides (Sosa y Acosta, 1966; Pinkava *et al.*, 1977).

En el género *Opuntia* también se observan series poliploides entre los que destacan *O. basilaris*, *O. cantabrigiensis*, *O. engelmannii* subespecie *lindheimeri* ya que se observan individuos diploides tetraploides y hexaploides (Yuasa *et al.*, 1973; Weedon y Powell, 1978; Grant y Grant, 1979; Parfitt, 1982; Pinkava y Parfitt, 1982).

En la porción sur del desierto Chihuahuense, cohabitan por lo menos seis especies del subgénero *Opuntia* de forma simpátrica o parapátrica, de las cuales en *O. rastrera* se desconoce su número cromosómico. Por otro lado en especies como *O. cantabrigiensis*, *O. joconostle* y *O. leucotricha* no se precisó la localidad exacta de los individuos que se utilizaron para estas determinaciones, por lo cual se desconoce si coincide este registro con

los de la zona de estudio, y los reportes para *O. robusta* y *O. streptacantha* de números cromosómicos son escasos para esta zona (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Registro de los números cromosómicos de las principales especies del género *Opuntia* que crecen en la porción sur del Desierto Chihuahuense.

Especie	Número cromosómico	Localidad	Autor
<i>O. cantabrigiensis</i>	44	Norte América	Yuasa <i>et al.</i> , (1973)
<i>O. cantabrigiensis</i>	66	Norte América	Yuasa <i>et al.</i> , (1973)
<i>O. leucotricha</i>	44	Norte América	Yuasa <i>et al.</i> , (1973)
<i>O. rastrera</i>	Sin registro		
<i>O. robusta</i>	22	Estado de México	Sosa y Acosta (1964)
<i>O. robusta</i>	44	Jalisco	Muñoz <i>et al.</i> , (1995)
<i>O. robusta</i>	44	San Luis Potosí	Sosa y Acosta (1964)
<i>O. robusta</i>	44	Estado de México	Sosa y Acosta (1964)
<i>O. robusta</i>	44	Hidalgo	Sosa y Acosta (1964)
<i>O. robusta</i>	44	Sonora	Pinkava <i>et al.</i> , (1975)
<i>O. robusta</i>	66	Norte América	Yuasa <i>et al.</i> , (1973)
<i>O. streptacantha</i>	22	Norte América	Yuasa <i>et al.</i> , (1973)
<i>O. streptacantha</i>	88	San Luis Potosí	Pinkava y Parfitt (1982)
<i>O. streptacantha</i>	88	Norte América	Yuasa <i>et al.</i> , (1973)
<i>O. streptacantha</i>	88	Jalisco	Muñoz <i>et al.</i> , (1995)
<i>O. streptacantha</i>	88	Zacatecas	Pinkava y Parfitt (1982)
<i>O. streptacantha</i>	88	Distrito Federal	Palomino y Heras (2001)
<i>O. joconostle</i>	66	No especificado	Rodríguez-Meza (2001)

En este trabajo, se determinaron los números cromosómicos de *O. cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. streptacantha* y *O. joconostle* en cuatro localidades aisladas para probar la hipótesis de que en el género *Opuntia* se producen poliploides de manera natural y algunos de ellos tienen diferente distribución espacial con respecto a sus progenitores diploides debido a que la ploidía favorece cambios adaptativos en las especies vegetales, por lo tanto es probable que se observen diferentes citotipos entre poblaciones de las diferentes especies y que los citotipos altos se encuentren en mayores densidades sobre todo en los afloramientos rocosos debido a la extremadamente baja disponibilidad de agua y nutrientes minerales.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Descripción del área de estudio.

Este trabajo se llevó a cabo en la región de los Llanos de Ojuelos (INEGI 1981) en la altiplanicie semiárida perteneciente a la parte sur oeste del Desierto Chihuahuense. Las áreas de estudio son a) El Rayo, Zacatecas (21° 58' N, 101° 35' O, 2190 m snm); b) Laguna de Guadalupe, Guanajuato (21° 49' N, 101° 22' O, 2180 m snm); c) Villa Hidalgo, Zacatecas (22°25' N, 101°25' O, 2150 m snm), y d) Paso de Cuarenta, Jalisco (21°31' N, 101°41' O, 1930 m snm) (Fig. 3.1.). El sitio de estudio es considerado como semiárido debido a que la precipitación pluvial anual varía de 450–500 mm. La temperatura promedio anual es de 16-18°C (Pimienta-Barrios, 1990).

La vegetación del área de estudio es matorral crasicaule y está compuesto principalmente por plantas suculentas como opuntias, biznagas, agaves y yucas, entre los elementos más conspicuos (Rzedowski, 1978). El estrato superior es de 2 a 5 m de alto dominan las especies *Opuntia streptacantha*, *Yucca descipiens*, mientras que en el estrato arbustivo que es de 1 a 2 m dominan *O. robusta* y *O. leucotricha*, mezcladas con *Cylindropuntia imbricata*, *O. joconostle*, y en el estrato subarbustivo que es menor de 1 m se encuentra *O. rastrera*, *Agave schidigera*, *Asclepias linaria*, *Dalea bicolor*, y el estrato herbáceo esta constituido por *Bouteloa gracilis*, *B. scorpioides*, *Aristida divaricata* y *Stipa eminens*. Además, en este estrato también encontramos algunas cactáceas como *Ferocactus histrix*, *Coryphanta cornifera* y *Echinocactus platyacanthus* (Pimienta-Barrios, 1990). Esta comunidad se desarrolla preferentemente en suelos someros de laderas de cerros de naturaleza volcánica, aunque también desciende a suelos aluviales (Rzedowsky, 1978) y se encuentra fragmentada por extensas áreas de cultivo.

En el presente estudio se trabajaron las siguientes especies: *Opuntia cantabrigiensis*, *O. joconostle*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta* y *O. streptacantha*. Ejemplares herborizados de estas especies fueron depositadas en el Herbario del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara (IBUG).

Las especies seleccionadas están ampliamente distribuidas en el Altiplano Potosino-Zacatecano, crecen comúnmente de forma simpátrica y presentan amplia variabilidad morfológica (Britton y Rose 1963; Bravo, 1978).



Figura 3.1. Localización geográfica del área de estudio.

3.4.2 Registro de números cromosómicos.

Se colectaron tres plantas de cada población, las cuales se pusieron a enraizar en el invernadero del Departamento de Ecología de la Universidad de Guadalajara. Después se colectaron ápices radicales en crecimiento y se colocaron en 8-hidroxiquinoleina (0.002M) por 8 h. Posteriormente, los ápices de raíz fueron hidrolizados con ácido clorhídrico (1N) por 10 min a 60°C y después fueron transferidos al reactivo de Feulgen, donde se dejaron reposar 7 min a 60°C. Se prepararon placas por medio de la técnica de aplastado, con ayuda de un microscopio óptico de campo claro (Zeiss) se seleccionaron cinco células en metafase de cada una de las tres plantas de cada población (García-Velázquez, 1990).

3.4.3. Densidad de las especies de nopal dentro de las poblaciones

Se determinó la densidad de cada una de las especies en sus respectivas poblaciones como indicador del tamaño poblacional de las mismas utilizando tres parcelas rectangulares de 18 x 30 m (540 m²) (Brower *et al.*, 1997).

Los datos de densidad fueron analizados utilizando la prueba de Kruskal-Wallis, debido a que los datos no muestran homoscedasticidad y distribución normal, además, se llevó a cabo la prueba de comparación de medianas de Student Newman-Keuls entre los tratamientos.

3.5. RESULTADOS

3.5.1. Registro de números cromosómicos

Los números cromosómicos fueron determinados en tres individuos de seis especies de *Opuntia* en cuatro localidades. Se registró a *O. cantabrigiensis* como diploide ($2n=2x=22$), *O. leucotricha* y *Opuntia robusta* resultaron tetraploides ($2n=4x=44$). Las especies *O. rastrera* y *O. joconostle* son hexaploides ($2n=6x=66$), en *O. rastrera* es el primer recuento cromosómico, mientras que *O. streptacantha* resultó ser octoploide ($2n=8x=88$) (Fig. 3.2).

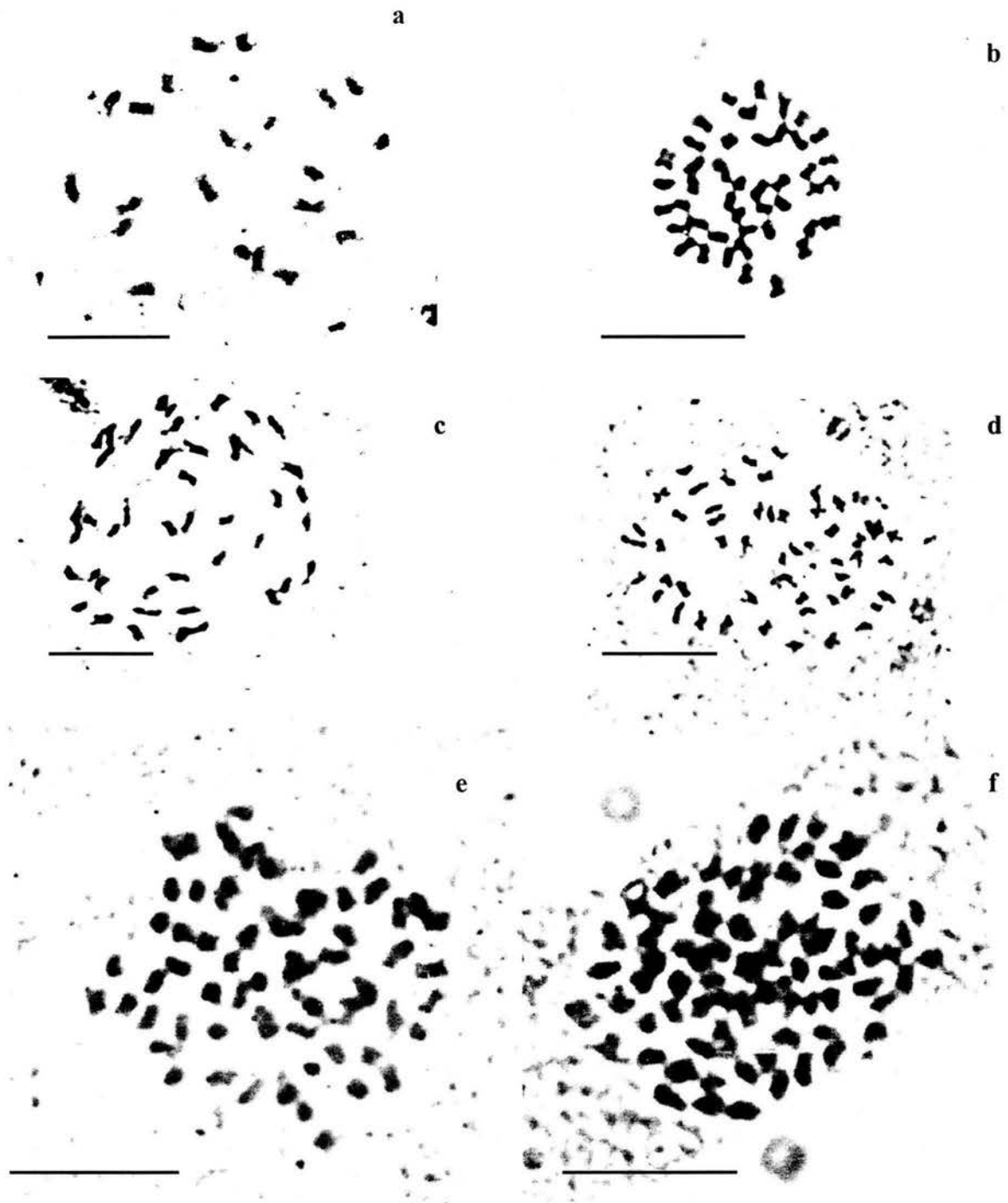


Figura 3.2. Células somáticas de meristemos radicales en especies de *Opuntia* a) *O. cantabrigiensis* ($2\underline{n}=2x=22$), b) *O. leucotricha*, ($2\underline{n}=4x=44$); c) *O. robusta*, ($2\underline{n}=4x=44$); d) *O. joconostle*, ($2\underline{n}=6x=66$); e) *O. rastrera*, ($2n=6x=66$); f) *O. streptacantha*, ($2\underline{n}=8x=88$). Escala 10 μm

3.5.2. Densidad de poblaciones de diferentes especies de *Opuntia*.

Encontramos que de las especies estudiadas, *Opuntia streptacantha* (8x) presentó 596 individuos por hectárea y solo crece en laderas con poca pendiente en suelos aluviales, además existen diferencias estadísticamente significativas ($H=20.3$, $g.l.=5$, $P=0.0011$) cuando se compara con las densidades del resto de las especies, las cuales mostraron densidades menores a 200 individuos por hectárea; *O. robusta* (4x) es de 138 individuos por hectárea, la especie con menor densidad fue *O. cantabrigiensis* (2x) con 24 individuos por hectárea, pero es estadísticamente similar a las especies *O. rastrera* (6x) y *O. leucotricha* (4x).

Sin embargo, es importante destacar que existe variación en las densidades entre los diferentes puntos de muestreo, como se puede observar en los errores estándar de la media en la tabla 3.2.

Tabla 3.2. Densidad estimada (individuos por hectárea) de cada especie en las diferentes localidades muestreadas.

Especie	Distribución	Densidad (ind ha) \pm error estándar de la media	Habitat	Tipo de rareza <i>Sensu</i> Rabinowitz (1981)
<i>O. streptacantha</i>	Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala y Zacatecas	596 \pm 437 a	Matorral xerófito Bosque espinoso Pastizal	Distribución amplia Abundancia alta Especificidad de hábitat alta
<i>O. robusta</i>	Chihuahua, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Querétaro	138 \pm 30 b	Matorral xerófito Bosque espinoso	Distribución amplia Abundancia baja Especificidad de hábitat alta
<i>O. leucotricha</i>	Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas	112 \pm 50 c	Matorral xerófito Bosque espinoso	Distribución amplia Abundancia baja Especificidad de hábitat alta
<i>O. rastrera</i>	Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Zacatecas	71 \pm 42 c	Matorral xerófito	Distribución amplia Abundancia baja Especificidad de hábitat alta
<i>O. joconostle</i>	Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Querétaro	67 \pm 53 c	Matorral xerófito Bosque espinoso	Distribución amplia Abundancia baja Especificidad de hábitat alta
<i>O. cantabrigiensis</i>	Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro y San Luis Potosí	24 \pm 13 c	Matorral xerófito Bosque espinoso	Distribución amplia Abundancia baja Especificidad de hábitat alta

3.6. DISCUSIÓN

Los números cromosómicos registrados en todas las especies no variaron entre las localidades. Los números cromosómicos encontrados en *O. leucotricha*, *O. robusta* y *O. streptacantha* coinciden con los reportados por Sosa y Acosta (1964); Yuasa *et al.*, (1973); Pinkava y Parfitt (1982); Muñoz *et al.*, (1995) y Palomino y Heras (2001).

En este estudio se encontró que el nivel de ploidía en *O. cantabrigiensis* resultó ser diploide, mientras que Yuasa *et al.* (1973) encontraron individuos tetraploides y hexaploides. Sin embargo, no especificó el lugar en donde se colectó este material. Esto limita establecer inferencias sobre la distribución de la poliploidía en esta especie. En cambio, *O. robusta* es tetraploide, coincidiendo con los reportes llevados a cabo en Jalisco, Zacatecas, San Luis Potosí, Hidalgo y Guanajuato (Sosa y Acosta, 1964; Muñoz *et al.*, 1995). En el Estado de México que es la parte sur de la distribución de esta especie (Guzmán *et al.*, 2003) reportaron que existen diploides y tetraploides (Sosa y Acosta, 1964). Sin embargo, no existen muestreos en Chihuahua, Sonora y Durango que es donde se encuentra el límite norte de su distribución y que por presentar condiciones ambientales diferentes podría haber niveles de ploidía diferentes.

Existen seis registros de niveles de ploidía en *O. streptacantha*, de los cuales cinco concuerdan con el nivel de ploidía reportado en este trabajo ($2n=8x=88$), basándose en esta información, el citotipo octoploide de *O. streptacantha* se distribuye en el Distrito Federal, Jalisco, Zacatecas, San Luis Potosí y Guanajuato (Yuasa *et al.*, 1973; Pinkava y Parfitt, 1982; Muñoz *et al.*, 1995; Palomino y Heras, 2001). Sin embargo, se desconoce el sitio de colecta del citotipo diploide de *O. streptacantha* reportado por Yuasa *et al.* (1973).

A pesar de que existen citotipos numéricos en las especies de *O. robusta*, *O. cantabrigiensis* y *O. streptacantha*, no observamos diferencias en el número cromosómico de estas especies, es posible que existan patrones de distribución de esta especie no sea parcial o completamente simpátrico, como ocurre en *Atriplex confertifolia* donde los citotipos diploides y tetraploides tiene amplios rangos de distribución que suelen traslaparse, pero que tienen diferentes tolerancias ecológicas como crecer en áreas de diferentes elevaciones (Stutz y Sanderson, 1983), mas bien el patrón de distribución de los citotipos se semeja a la distribución parapátrico o alopátrico donde los citotipos se distribuyen en diferentes áreas con o sin áreas de contacto como ocurre en *Larrea*

divaricata spp. *tridentata* donde los diploides se encuentran en Texas y Nuevo México, los tetraploides en Arizona y hexaploides al sur de Nevada (Yang y Lowe, 1968).

Es factible que en las regiones donde las poblaciones no muestran variación en el nivel de ploidía, sea resultado de la expansión de la distribución de los individuos poliploides ya que estos muestran diferente tolerancia a factores ambientales como temperatura, humedad y luz diferentes a los diploides (Ehrendorfer, 1980; Brammall y Semple, 1990; Hardy *et al.*, 2000) por lo cual, la presencia de un nivel de poliploidía determinado en *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta*, *O. streptacantha* y *O. joconostle* puede ser resultado de este patrón de distribución, por otro lado los individuos diploides permanecen en áreas más restringidas (Yang y Lowe, 1968; Van Dijk, *et al.*, 1992; Levin, 2002). Mientras tanto, las zonas donde coexisten ambos citotipos, son los sitios de origen de los poliploides de estas especies (Husband y Shemske, 1998, Lewis, 1980).

A pesar de que la especie octoploide *Opuntia streptacantha* no crece usualmente en los afloramientos rocosos, esta especie es la que muestra mayor densidad dentro de la zona de estudio, tampoco se observa una relación clara entre el incremento de ploidía con respecto a la densidad puesto que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes niveles de ploidía con respecto a las especies diploides, tetraploides y hexaploides, no obstante, todas las especies estudiadas por tener densidades bajas pueden estar consideradas como especies raras según (Rabinowitz, *et al.*, 1986; Ricklefs *et al.*, 1995; Esparza-Olguín y Valverde; 2003) a excepción del octoploide. Es probable que las densidades a bajas en estas especies se deban tanto a la actividad antrópica como a la helada registrada durante las noches del 12–14 de diciembre de 1997, donde se registraron temperaturas de -11 hasta -5°C y como parte de los daños provocados por la helada se observó pudrición bacteriana y abscisión de cladodios durante el primer mes (Flores y Yeaton, 2003), después de este periodo la invasión bacteriana provocó la muerte de muchas plantas (observación personal).

Con respecto a las tolerancias a las temperaturas bajas entre poliploides existen marcadas diferencias, puesto que en algunas especies los diploides son más tolerantes a las temperaturas bajas como *Larrea tridentata* spp. *divaricata* (Yang y Lowe, 1968), mientras que en otras como *Brassica campestris* o *Raphanus sativa*, los poliploides altos son más tolerantes a las temperaturas bajas que las especies diploides (Levin, 2002).

En el género *Opuntia* puede apreciarse, que al incrementarse el nivel de ploidía se incrementa la resistencia al frío, ya que en especies cultivadas octoploides se observa mayor resistencia a temperaturas bajas en contraste a especies hexaploides Flores-Hernández *et al.*, 1988. En especies silvestres se observa esta tendencia en la distribución de sus citotipos, por ejemplo en *O. polyancatha*, los diploides en el sur de Estados Unidos, mientras que los tetraploides y hexaploides se observan en Canadá y en el norte de los Estados Unidos. (Stockwell, 1935; Weedin y Powell, y Pinkava *et al.*, 1992). Es posible que el patrón de la tolerancia a bajas temperaturas por parte de los poliploides sea una tendencia general para todo el género, por lo cual la baja abundancia en la zona de estudio de las especies hexaploides, tetraploides y en particular de los diploides se deba principalmente a la helada registrada en diciembre de 1997.

3.7. LITERATURA CITADA

- Brammel, R. A. y J. C. Semple. 1990.** The cytotaxonomy of *Solidago nemoralis* (Compositae: Asteraceae). *Canadian Journal of Botany* 68: 2065-2069.
- Bravo, H. H. 1978.** *Las cactáceas de México*. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F.
- Britton, N. L. y J. N. Rose. 1963.** *The Cactaceae descriptions and illustrations of plant of cactus family*. Dover Publications, Inc. Nueva York, U. S. A.
- Cota, J. H. y R. S. Wallace. 1995.** Karyotypic studies on the genus *Echinocereus* (Cactaceae) and their taxonomic significance. *Caryologia* 48(2):105-122.
- Cota, J. H. y T. Philbrick. 1994.** Chromosome number variation and polyploidy in the genus *Echinocereus* (Cactaceae). *American Journal of Botany* 81(8):1054-1062.
- Esparza-Olguín, L. y T. Valverde. 2003.** Estudio comparativo de la fenología de tres especies de *Neobuxbaumia* que difieren en su nivel de rareza. *Cactáceas y suculentas Mexicanas* (48)3:68-88.
- Ehrendorfer, F. 1980.** Polyploidy and distribution. En: Lewis (ed.). *Poliploidy. biological relevance*. Plenum, New York U. S. A. pp:45-60.
- Flores-Hernández, A., F. Borrego-Escalante, H. Gómez Contreras y A. López Benítez. 1988.** Variabilidad y estudio cromosómico del nopal (*Opuntia* spp.). *Cactáceas y suculentas Mexicanas* XXXIII:91-97.
- Flores, J. L. Y R. I. Yeaton. 2003.** The replacement of arborescent cactus species along a climatic gradient in the southern Chihuahuan Desert: comparative hierarchies and response to freezing temperatures. *Journal of Arid environments* 55:583-594.
- García-Velázquez, A. 1990.** *Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal*. Colegio de Posgraduados, México.
- Grant, V. 1981.** *Plant speciation*. Columbia University Press, New York. U. S. A.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003.** *Catálogo de cactáceas mexicanas*. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

- Hardy, O. J., S. Vanderhoeven, M. De Loose y P. Meerts. 2000.** Ecological, morphological and allozymic differentiation between diploid and tetraploid knapweeds (*Centaurea jacea*) from a contact zone in the Belgian Ardennes. *New Phytologist* 146: 281-290.
- Husband, B. C. y D. W. Shemske. 1998.** Cytotype distribution at a diploid-tetraploid contact zone in *Chamerion (Epilobium) angustifolium* (Onagraceae). *American Journal of Botany* 85 (12): 1688-1694.
- INEGI. 1981.** *Síntesis geográfica de Jalisco*. Secretaría de Programación y Presupuesto, México, D. F.
- Johansen, D. A. 1933.** Recent work on the cytology of cacti. *Cactus and succulent Journal (U. S. A.)* 4: 456.
- Johnson, M. A. T. 1978.** Diploid cytotypes in *Mammillaria prolifera* and three other *Mammillaria* species. *The Cactus and Succulent Journal (G. B.)* 40 (1): 9-12.
- Katagiri, S. 1953.** Chromosome numbers and polyploidy in certain Cactaceae. *Cactus and Succulent Journal (U. S. A.)* 25: 141-143.
- Leitch, I. J. y M. D. Bennett. 1997.** Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Science* 2 (12): 470-476.
- Levin, D. A. 2002.** *The role of chromosomal change in plant evolution*. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press. U. S. A.
- Lewis, W. H. 1967.** Cytocatalytic evolution in plants. *Botanical Review* 33:105-115.
- Lewis, W. H. 1980.** Polyploidy in Species Populations. En: Lewis (ed.) *Poliploidy. biological relevance*. Plenum, New York, U. S. A. pp: 103-144.
- Muñoz, U. A., García V. y E. Pimienta. 1995.** Relación entre el nivel de ploidía y variables anatómicas y morfológicas en especies silvestres y cultivadas de nopal tunero (*Opuntia* spp.). En: Pimienta-Barrios E., C. Neri-Luna, A. Muñoz-Urias y F.M. Huerta-Martínez (comp.). *Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal 6to Congreso Nacional y 4to Internacional*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México pp: 7-11.
- Palomino, G. y H. M. Heras. 2001.** Karyotypic studies in *Opuntia cochineria*, *O. hyptiacantha*, and *O. streptacantha* (Cactaceae). *Caryologia* 54 (2): 147-154.

- Pimienta-Barrios, E. 1990.** *El nopal tunero*. Serie libros tiempos de ciencia, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
- Pinkava, D. J., M. A. Baker, B. D. Parffit y M. W. Mohlenbrock. 1985.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. V. *Systematic Botany* 10 (4): 471-483.
- Pinkava, D. J., L. A. Mc Gill, T. Reeves y M. G. Mc Leod. 1977.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. III. *Bulletin of Torrey Botanical Club* 104 (2): 105-110.
- Pinkava, D. J., M. G. Mc Leod, L. A. Mc Gill y R. C. Brown. 1973.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. II. *Brittonia* 25: 2-9.
- Pinkava, D. J. y B. D. Parffit. 1982.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. IV. *Bulletin of Torrey botanical Club* 109 (2): 121-128.
- Pinkava, D. J., B. D. Parffit, M. A. Baker y R. D. Worthington. 1992.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. VI with nomenclatural changes. *Madroño* 39 (2): 98-113.
- Rabinowitz, D., S. Cairns y T. Dillon. 1986.** Seven forms of rarity and their frequency in the flora of British Isles. En: Soulé M. E. (ed.) *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*. Sinauer, Sunderland.
- Remski, M. F. 1954.** Cytological investigations in *Mammillaria* and some associated genera. *Botanical Gazette* 163-171.
- Ricklefs, R. E., M. T. Kalin-Arroyo, R. E. Latham, T. M. Lewinsohn, D. J. Lodge, N. I. Platnick y D. Wrigth. 1995.** The distribution of biodiversity. En: Hawksworth, D. L. y M. T. Kalin-Arroyo (co-ordinators). Magnitude and distribution of biodiversity. En: Heywood, V. H. and R. T. Watson (Ed.) *Global biodiversity assessment*. UNEP y Cambridge University. U. S. A.
- Rodríguez Mesa, J. M. 2001.** *Caracterización isoenzimática, citológica y morfológica de especies e híbridos interespecíficos de nopal tunero (Opuntia spp.)* Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. 76 p.
- Ross, R. 1981.** Chromosome counts, cytology, and reproduction in the cactaceae. *American Journal of Botany* 68 (4): 463-470.
- Rzedowski, J. 1978.** *Vegetación de México*. LIMUSA, México, D. F.

- Sosa, R. y A. Acosta. 1966.** Poliploidia en *Opuntia* spp. *Agrociencia* 1: 100-106.
- Stockwell, P. 1935.** Chromosome numbers of some of the Cactaceae. *Botanical Gazette* CXVII: 33-37.
- Stuessy, T.F., H. Weiss-Schneeweiss and D. J. Keil. 2004.** Diploid and polyploid cytotype distribution in *Melampodium cinereum* and *M. leucanthum* (Asteraceae, Heliantheae). *American Journal of Botany* 91(6):889-898.
- Van Dijk, P., M. Hartog y W. Van Delden. 1992.** Single cytotype areas in autotetraploid *Plantago media* L. *Biological Journal of Linnean Society* 46: 315-331.
- Weedin, J. F. y A. M. Powell. 1978.** Chromosome numbers in Chihuahuan desert cactaceae in Trans-Pecos, Texas. *American Journal of Botany* 65 (5): 531-537.
- Yang, T. W. y C. H. Lowe. 1968.** Chromosome variation ecotypes of *Larrea divaricata* in the North American desert. *Madroño* 19: 161-164.
- Yuasa, H., H. Shimizu, S. Kashiwai y N. Kondo. 1973.** Chromosome numbers and their bearing on the geographic distribution in the subfamily Opuntioideae (Cactaceae). *Report of the Institute for Breeding Research, Tokyo University of Agriculture* 4:1-10 (English summary).

CAPÍTULO 4:

VARIACIÓN ANATÓMICA Y MORFOLÓGICA EN ESPECIES Y ENTRE POBLACIONES DE *Opuntia* EN LA PORCIÓN SUR DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE

En preparación para Botanical Journal of the Linnean Society

VARIACIÓN ANATÓMICA Y MORFOLÓGICA EN ESPECIES Y ENTRE POBLACIONES DE *Opuntia* EN LA PORCIÓN SUR DEL DESIERTO CHIHUAHUENSE

4.1. RESUMEN

En este trabajo se evaluó la variación fenotípica en diferentes poblaciones de *Opuntia cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta* y *O. streptacantha* que se encuentran separadas entre sí de 32 a 110 km por terrenos agrícolas. En el área de estudio no se observa variación en la altitud. Las poblaciones presentan diferentes densidades, la población más pequeña es de *O. cantabrigiensis* (13 individuos/ha), mientras que la más grande es de *O. streptacantha* (1852 individuos/ha).

La variación fenotípica se evaluó a través de 27 variables anatómicas y morfológicas mediante análisis discriminante. El porcentaje de variación explicada osciló entre 75 y 100% en las dos primeras funciones canónicas discriminantes. El análisis separa los individuos de las poblaciones de *O. cantabrigiensis*, que es la especie con menor densidad, mientras que en *O. rastrera*, *O. robusta* y *O. streptacantha* se observa que se traslapan los individuos de diferentes poblaciones. Las variables originales correlacionadas con las funciones canónicas de la mayoría de las especies fueron grosor de cladodio, ancho y densidad estomática y mostraron correlación con la altitud y la precipitación pluvial anual, además, las diferencias fenotípicas entre las poblaciones parecen estar relacionadas con la densidad de los individuos dentro de las poblaciones aisladas y con el gradiente ambiental que existe en esta zona.

4.2. ABSTRACT

Phenotypic variation in different populations of *Opuntia cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta* and *O. streptacantha* was evaluated. These populations are separated among themselves from 32 to 110 km by agricultural lands. No variation was observed in altitude in the study area. But populations of different species have differences in density. The lowest density occurred in *O. cantabrigiensis* (13 individual/ha), whereas highest was in *O. streptacantha* (1852 individual/ha). The phenotypic variation was evaluated through 27 anatomical and morphologic variables using discriminant analysis. Percentage of variation explained oscillated between 75 to 100% in two first canonical discriminant functions. Discriminant analysis separated *O. cantabrigiensis* populations, the species with lowest density, whereas in *O. rastrera*, *O. robusta* and *O. streptacantha* individuals from different populations overlapped. In addition, cladode thickness, stomatal wide and stomatal density were original variables correlated with the canonical functions in the most of the species, these variables show correlation with altitude and annual mean precipitation. Therefore, phenotypic differences between populations appear to be related to the density of the individuals within the isolated populations and environmental gradient that exists in this zone.

4.3. INTRODUCCIÓN

El subgénero *Opuntia* se distribuye principalmente en regiones semiáridas, bosques mésicos, pastizales y bosques tropicales (Starmer *et al.*, 2003). En México el Altiplano Potosino-Zacatecano que comprende partes territoriales de los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Jalisco y Durango, se caracteriza por la presencia de áreas extensas en las que la comunidad vegetal está constituida por miembros de este género (Marroquín *et al.*, 1964).

En estas áreas *Opuntia* muestra marcada variación morfológica, de tal manera Bravo (1978) y Scheinvar (1995), consideran que su taxonomía es confusa. Es común que exista variación en las formas de crecimiento (arbustivo, arborescente, rastrero), tiempos de ocurrencia de las fenofases vegetativas y reproductivas, así como en la forma, color, peso y composición química del fruto (Pimienta-Barrios y Mauricio-Leguizamo, 1989, Pimienta-Barrios, 1994; Pimienta-Barrios y Muñoz-Urias, 1995; Muñoz-Urias *et al.*, 1995).

La variación morfológica presente en especies silvestres y cultivadas de este subgénero ha sido relacionada con fenómenos como la hibridación, asociada a un incremento de poliploidía y aislamiento geográfico (Gibson y Nobel, 1986, Pimienta-Barrios y Muñoz-Urias, 1995; Scheinvar, 1995).

En la actualidad existen trabajos en los que se registran niveles de ploidía de las opuntias que crecen al norte de México y el sur de Estados Unidos (Sosa y Acosta, 1966; Pinkava y Mc Leod, 1971; Mc Leod, 1975; Pinkava *et al.*, 1973; 1977; 1985; 1992, Palomino y Heras, 2001). Con respecto a la hibridación, se han reportado numerosos híbridos en este subgénero (Mc Leod, 1975; Grant y Grant, 1979; 1980; Parffit, 1980; Pinkava *et al.*, 1992; Mayer *et al.*, 2000; Griffith, 2001); sin embargo, el efecto del aislamiento geográfico no ha sido evaluado, no obstante que el aislamiento geográfico se ha incrementado, debido a que en los últimos años se ha observado una disminución de las nopaleras debido al aumento de la superficie cultivada (Gastó *et al.*, 1981; Janzen, 1986).

El aislamiento provocado por las actividades agrícolas ha generado que las poblaciones naturales se distribuyan a manera de islas geográficas, en algunos casos de tamaño reducido, favoreciendo la autogamia y la reducción en el flujo genético entre las poblaciones. Este aislamiento puede tener implicaciones en la estructura genética de la población (Young *et al.*, 1996), favoreciendo la formación de ecotipos y razas (Hodálová y Marhold, 1998; Selin, 2000; Okada *et al.*, 2000).

Este trabajo consistió en medir 27 variables morfológicas y anatómicas y las densidades de *O. cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. streptacantha*, *O. rastrera* y *O. robusta* con el fin de probar la siguiente hipótesis: si la variación morfológica presente en las especies de *Opuntia* son generadas por hibridación natural, se observará que los fenotipos de los híbridos tendrán características morfológicas intermedias entre los progenitores, por lo cual se observará yuxtaposición entre las especies cuando se lleve a cabo el análisis discriminante entre ellas.

Además, se evaluará la variación entre poblaciones que se encuentran aisladas de 32 a 100 km, con la finalidad de observar la plasticidad fenotípica presente entre poblaciones y conocer si son resultado de un gradiente ambiental o si esta variación se debe al aislamiento geográfico y a la disminución del tamaño de las poblaciones.

Por lo cual se pretende responder las siguientes preguntas (1) ¿Existe hibridación natural entre individuos de diferentes especies? (2) ¿Existen diferencias estructurales en poblaciones de *Opuntia* aisladas por varios kilómetros? (3) ¿Si existen diferencias, éstas responderán al aislamiento geográfico o a gradientes altitudinales de temperatura o precipitación?, (3) ¿Estas divergencias son más notables en poblaciones de menor densidad?

4.4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.4.1. Descripción del área de estudio.

Este trabajo se llevó a cabo en la región de los Llanos de Ojuelos (INEGI 1981), en la altiplanicie semiárida perteneciente a la parte sur oeste del Desierto Chihuahuense. Las áreas de estudio fueron: a) El Rayo, Zacatecas; b) Laguna de Guadalupe, Guanajuato; c) Villa Hidalgo, Zacatecas y d) Paso de Cuarenta, Jalisco (Fig. 4.1). La precipitación pluvial anual oscila entre 450 y 500 mm, mientras que la temperatura anual promedio es de 16 a 18°C. El clima de las cuatro localidades es clasificado como seco estepario templado, según la clasificación de Köppen (Pimienta-Barrios, 1990). En la Tabla 4.1 se sintetizan los datos de la ubicación geográfica y dos variables del clima. Las localidades están separadas por áreas de cultivo y esta separación oscila entre 32 y 110 km (Tabla 4.2).

La vegetación del área de estudio es matorral crasicaule y está compuesto principalmente por plantas suculentas como opuntias, biznagas, agaves y yucas, entre los elementos más conspicuos (Rzedowski, 1978). El estrato superior que es de 2 a 5 m de alto, dominan las especies *Opuntia streptacantha*, *Yucca descipiens*, mientras que en el estrato arbustivo que es de 1 a 2 m dominan *O. robusta* y *O. leucotricha*, mezcladas con *Cylindropuntia imbricata*, *O. joconostle*, y como estrato subarbustivo que es menor de 1 m se encuentra *O. rastrera*, *Agave schidigera*, *Asclepias linaria*, *Dalea bicolor*, y el estrato herbáceo esta constituido por *Bouteloa gracilis*, *B. scorpioides*, *Aristida divaricata* y *Stipa eminens*. Además, en este estrato también encontramos algunas cactáceas como *Ferocactus histrix*, *Coryphanta cornifera* y *Echinocactus platyacanthus* (Pimienta-Barrios, 1990). Esta comunidad se desarrolla

preferentemente en suelos someros de laderas de cerros de naturaleza volcánica, aunque también desciende a suelos aluviales (Rzedowsky, 1978) y se encuentra fragmentada por extensas áreas de cultivo.



Figura 4.1. Localización geográfica del área de estudio.

Tabla 4.1. Características climáticas de las localidades de estudio.

Localidad	Altitud (m snm)	Latitud	Precipitación pluvial (mm)	Temperatura media anual (°C)
Paso de Cuarenta	1930	21°31' N, 101°41' O	535.2	17.45
Villa Hidalgo	2150	22°25' N, 101°25' O	427.8	16.25
Laguna de Guadalupe	2180	21°49' N, 101°22' O	433.8	16.11
El Rayo	2190	21° 58' N, 101° 35' O	542.2	16.65

Tabla 4.2. Distancia entre las poblaciones evaluadas dentro del área de estudio.

	Villa Hidalgo	Laguna de Guadalupe	El Rayo
	Km	Km	Km
Paso de Cuarenta	110	47	50
Villa de Hidalgo		75.5	58
Laguna de Guadalupe			32

4.4.2. Descripción del material vegetativo.

Las especies que se estudiaron (*Opuntia cantabrigiensis*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta* y *O. streptacantha*) son de amplia distribución en la porción sur del Desierto Chihuahuense. Crecen comúnmente de forma simpátrica o parapátrica y presentan amplia variabilidad morfológica (Britton y Rose 1963; Bravo, 1978). a) *O. cantabrigiensis* es un arbusto redondeado, de 1 a 2 m de altura con cladodios de forma orbicular hasta obovado de 12 a 20 cm de longitud de color verde azulado. b) *O. leucotricha*, es una planta arborescente de 3 a 5 m de altura, con tronco más o menos bien definido y ramoso, cubierto con pelos setosos, blancos y flexibles sus cladodios son de forma oblonga de 15 a 30 cm de largo y de epidermis pubescente. c) *O. rastrera* es una planta rastrera con artículos circulares hasta obovados, los mas grandes de unos 20 cm de diámetro, formando grandes cadenas. d) *O. robusta*, es arbustiva, muy ramificada, de 1 a 2 m de altura, tronco más o menos definido, con ramas como de 1.5 m de largo y cladodios orbiculares o algo oblongos de 15 a 40 cm de longitud o más. e) *O. streptacantha*, es arborescente; muy ramificada, hasta 5 m de altura, con tronco bien definido a veces hasta 45 cm de diámetro sus cladodios tienen formas obovados hasta orbiculares, de 25 a 30 cm de longitud (Britton y Rose, 1963; Bravo, 1978).

4.4.3. Evaluación morfológica y anatómica.

Los rasgos morfológicos y anatómicos de cladodios maduros fueron evaluados en plantas alejadas entre sí 10 m. Los muestreos se realizaron en 20 plantas por especie y sólo se

muestreó un cladodio que estuviera en floración o fructificación, y que no presentaran daños causados por factores bióticos y abióticos.

Para el estudio anatómico del córtex, se disectaron tiras epidermales de ± 1 cm de longitud de la parte central del cladodio. Estas se deshidrataron en alcohol (96 %) por 24 horas. Una vez deshidratadas se tiñeron con azul de toluidina (0.05 % v/v) por 5 a 10 min. Además, se hicieron cortes transversales en 10 cladodios de cada especie en cada población, para lo cual se empleó un sacabocados de 7.8 mm de diámetro. En estas muestras se hicieron cortes trasversales de aproximadamente 80 μm con una navaja de rasurar. Estos fueron teñidos con azul de toluidina (0.5 % v/v) de 5 a 10 min. En cada corte se registró información de dos campos oculares y para medir el tamaño (μm) se empleó un microscopio óptico (Zeiss) al que se le adaptó un micrómetro ocular.

Los rasgos morfológicos y anatómicos evaluados se enlistan a continuación: 1) Largo del cladodio (cm); 2) ancho del cladodio (cm); 3) grosor del cladodio (cm); 4) distancia máxima de la parte apical a la más ancha (cm); 5) distancia máxima de la parte basal a la más ancha (cm); 6) número de líneas de aréolas; 7) tamaño de la aréola; 8) distancia entre aréolas (cm); 9) distancia entre líneas (cm); 10) tamaño del gloquidio (Fig. 4.2); 11) número de espinas menores de 1 cm; 12) número de espinas entre 1 y 3 cm; 13) número de espinas mayores a 3 cm; 14) número total de espinas por aréola; 15) número de espinas rectas por aréola (espinas que forman un ángulo de 80 a 90° con la superficie del cladodio); 16) número de espinas porrectas por aréola (espinas que forman un ángulo de 46 a 75° con la superficie del cladodio); 17) número de espinas reflejas (espinas que forman un ángulo de 16 a 40° con la superficie del cladodio); 18) número de espinas adpresas (espinas que forman un ángulo de 10° o menos con la superficie del cladodio); 19) grosor de la cutícula (μm); 20) grosor de la epidermis (μm); 21) grosor del colénquima (μm); 22) grosor del parénquima (μm); 23) profundidad de la cripta estomática (μm); 24) densidad estomática (estomas. mm^2); 25) largo de estomas (μm); 26) ancho de estomas (μm) y 27) área de estomas (μm^2).

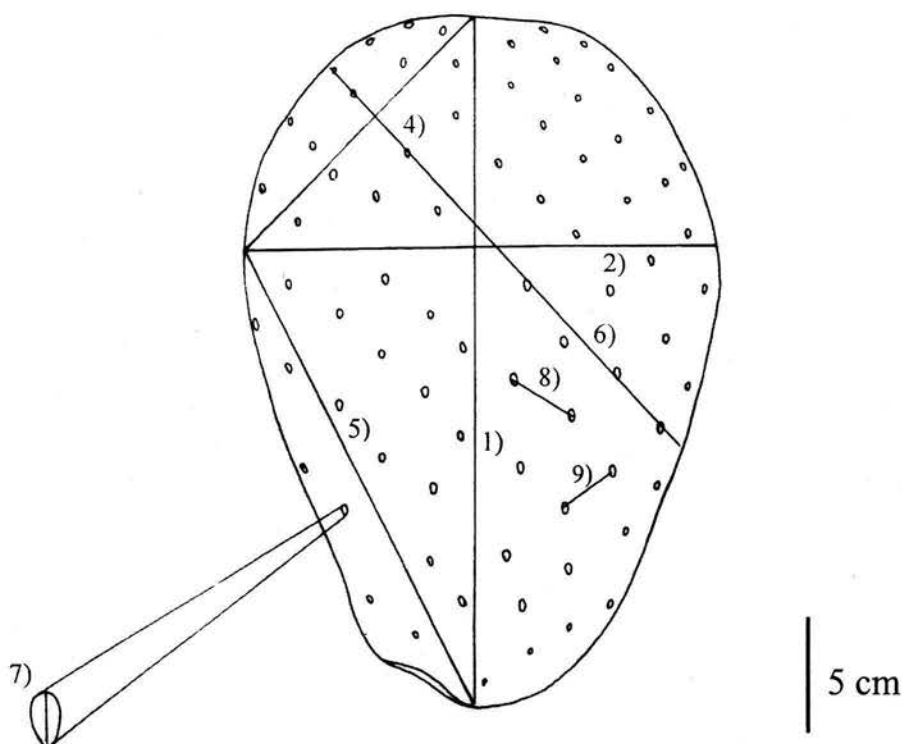


Figura 4.2. Caracteres morfológicos analizados en cladodios de *Opuntia*. 1) Largo del cladodio (cm); 2) ancho del cladodio (cm); 4) distancia máxima de la parte apical a la más ancha (cm); 5) distancia máxima de la parte basal a la mas ancha (cm); 6) número de líneas de aréolas; 7) tamaño de la aréola; 8) distancia entre aréolas (cm); 9) distancia entre líneas (cm).

4.4.4. Densidad de las especies de nopal dentro de las poblaciones

Se determinó la densidad de los individuos especies en sus respectivas poblaciones como indicador del tamaño poblacional de las mismas utilizando tres parcelas rectangulares de 18 x 30 m (540 m²) (Brower *et al.*, 1997).

4.4.5. Análisis estadístico

Antes de llevar a cabo el análisis discriminante se probó que las variables presentaran distribución normal por medio de la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov (Zar, 1984).

En los casos que no se presentó distribución normal los datos fueron transformados con logaritmo natural, x^2 o raíz cuadrada. Cuando éstos no presentaron distribución normal después de las transformaciones, los datos fueron eliminados.

Se llevó a cabo el análisis discriminante múltiple utilizando el programa SPSS versión 10 para determinar si existen diferencias entre poblaciones aisladas y entre especies a través de variables anatómicas y morfológicas además se llevó a cabo el análisis de membresía para predecir la entidad de cada individuo como medida de efectividad del análisis (Hair *et al.*, 1999).

Se correlacionó a las variables originales con la precipitación pluvial, temperatura media anual y altitud, para las variables continuas se utilizó la correlación de Pearson mientras que para las variables discretas se utilizó la correlación de Kendall.

4.5. RESULTADOS

4.5.1. Caracterización de la variación anatómica y morfológica entre especies silvestres de *Opuntia*.

El análisis discriminante explicó el 94.1 % de la variación total en las tres primeras funciones discriminantes. El eigenvalor de la primer variable canónica explicó el 59.8 % de la variación, las variables originales correlacionadas con esta función son: profundidad de la cripta estomática, grosor de cutícula, altura del tallo y número de espinas adpresas por aréola. El eigenvalor para la segunda variable canónica representa el 22.9% de la variación. Esta función discriminante está correlacionada con el número de espinas menores de 1 cm por aréola, grosor del parénquima, grosor del cladodio y grosor de la epidermis, mientras que la variable canónica 3 explica el 6.4% de la variación y se correlacionó con el número de líneas de aréolas por cara del cladodio, distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio, distancia entre líneas de aréolas, distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio, ancho de estomas y grosor del colénquima (Tabla 4.3).

El diagrama de dispersión muestra que las funciones discriminantes 1 y 2 explican el 87.7 % de la variación (Fig. 4.3). Se observa que la función discriminante 1 distribuyó hacia el lado derecho del gráfico a *O. leucotricha* y *O. streptacantha* del resto de las especies, ya que éstas poseen mayor profundidad de la cripta estomática, grosor de cutícula, altura del tallo y número de espinas adpresas por aréola. La función discriminante 2 separó a *O.*

streptacantha de *O. leucotricha*, ya que la primera de estas dos especies se caracteriza por presentar mayor grosor de parénquima, del cladodio y de la epidermis, de igual forma tiene menor número de espinas menores de 1 cm por aréola.

Tabla 4.3. Análisis discriminante entre diferentes especies de *Opuntia* de la porción sur del Desierto Chihuahuense con base en variables morfológicas y anatómicas.

Variable	Función Canónica discriminante		
	1	2	3
Eigenvalor	16.424	7.667	1.771
Porcentaje de Variación explicada	59.8	27.9	6.4
Porcentaje de variación explicada acumulada	59.8	87.7	94.1
Correlación canónica	0.971	0.941	0.799
Variable original	Matriz de estructura		
Profundidad de la cripta estomática	0.493*	0.282	-0.119
Grosor de cutícula	0.234*	0.193	-0.029
Altura del tallo	0.196*	0.120	0.008
Número de espinas adpresas por aréola	0.175*	0.077	-0.022
Número de espinas menores de 1 cm por aréola	0.163	-0.256*	0.220
Grosor del parénquima	0.032	0.255*	0.132
Grosor del cladodio	0.014	0.251*	0.165
Grosor de la epidermis	0.078	0.155*	-0.121
Número de líneas de aréolas por cara del cladodio	0.416	-0.412	0.488*
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio	-0.011	0.241	0.437*
Distancia entre líneas de aréolas	-0.212	0.379	0.423*
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio	0.040	0.259	0.268*
Ancho de estomas	-0.061	-0.103	0.216*
Grosor del colénquima	-0.189	0.084	0.200*

*correlaciones significativas ($P < 0.01$) entre la variable original y la función canónica discriminante.

Cuando se grafican la función discriminante 1 y 2 en la Figura 4.3 se observa que en el lado izquierdo de la gráfica las especies *O. rastrera* y *O. cantabrigiensis* se yuxtaponen por completo; sin embargo, la función discriminante 3 separa a ambas especies (Fig. 4.4.). El

análisis de membresía entre ambas especies indicó que los individuos de cada especie se clasifican correctamente. Por otro lado, existe yuxtaposición entre este conglomerado y *O. robusta* por efecto de la función discriminante 2, mientras que la misma función separa a las especies *O. streptacantha* y *O. leucotricha*.

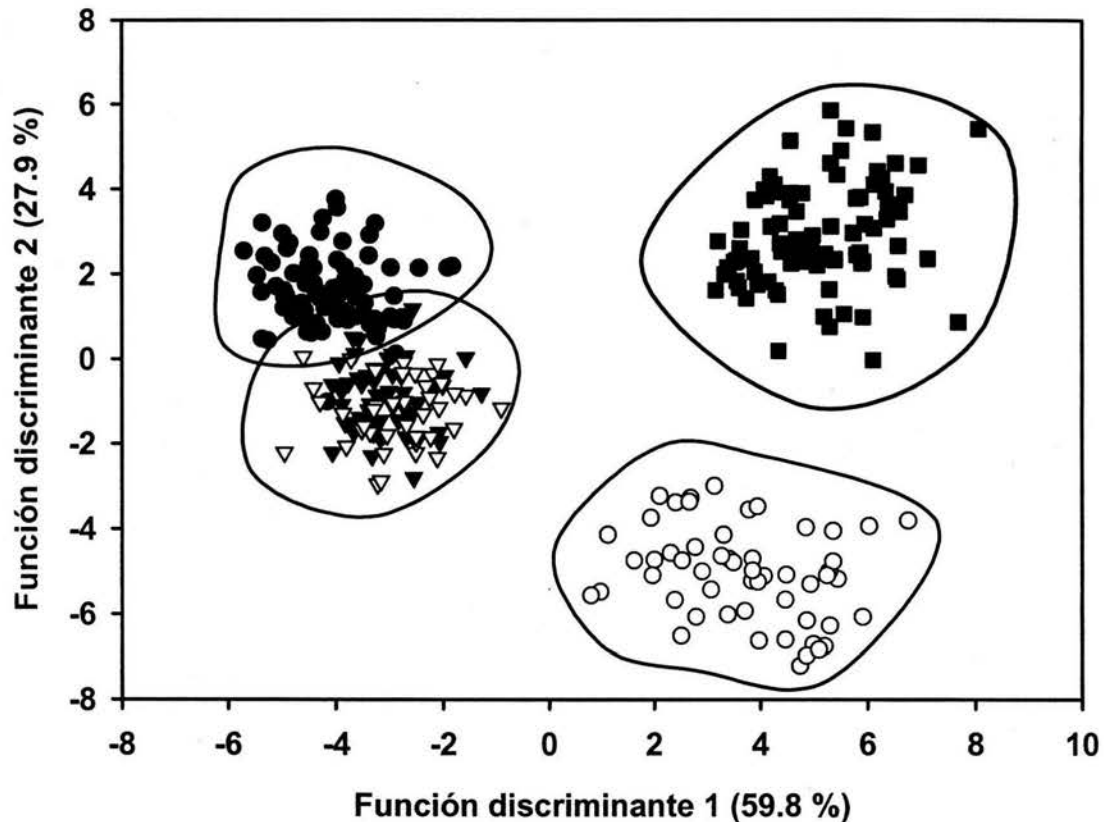


Figura 4.3. Diagrama de dispersión de las funciones canónicas discriminantes 1 y 2 en *Opuntia cantabrigiensis* (∇), *O. leucotricha* (○), *O. rastrera* (\blacktriangledown), *O. robusta* (●) y *O. streptacantha* (■).

El resultado general de clasificación del análisis discriminante indica que los individuos fueron clasificados correctamente en el 99.4 % de los casos. El 100 % de los individuos de las especies *O. cantabrigiensis*, *O. leucotricha* y *O. streptacantha* fueron clasificados de manera correcta, mientras que en *O. robusta* el 98.8 % de los individuos fueron clasificados correctamente, y el 1.3 % de los individuos fueron clasificados como *O. cantabrigiensis*. Situación similar ocurre en *O. rastrera*, ya que el 98.3 % de los individuos de

esta especie fueron clasificados correctamente y solo el 1.7 % fue clasificado como *O. robusta*. (Tabla 4.4).

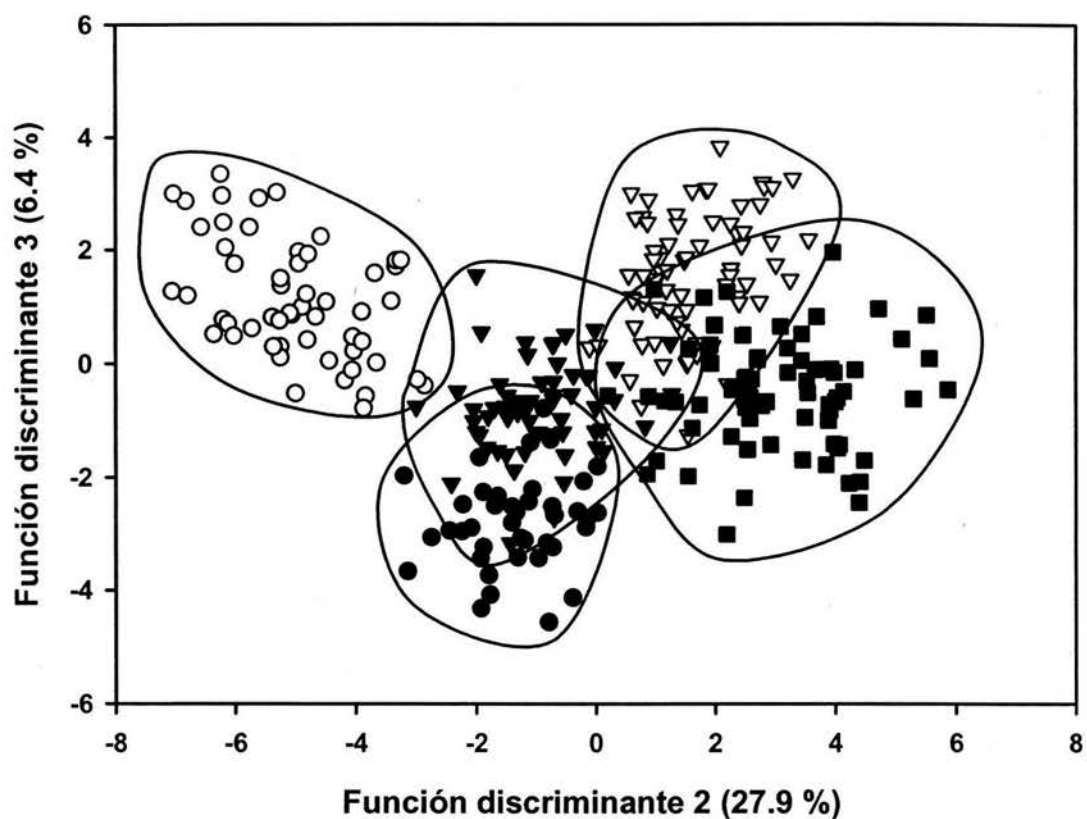


Figura 4.4. Diagrama de dispersión de las funciones canónicas discriminantes 2 y 3 en *Opuntia cantabrigiensis* (∇), *O. leucotricha* (\circ), *O. rastrera* (\blacktriangledown), *O. robusta* (\bullet) y *O. streptacantha* (\blacksquare).

4.5.2. Caracterización de la variación anatómica y morfológica entre poblaciones de las especies de *Opuntia*.

Los promedios y error estándar de cada una de las variables se muestran en la Tabla 4.5. (apéndice) Los análisis de *O. cantabrigiensis* y *O. rastrera* explicaron el 100% de la variación total en dos funciones discriminantes y en *O. streptacantha* tres funciones. Sin embargo, el análisis discriminante de *O. robusta* explicó hasta el 95.7% de la variación en dos funciones y sólo en *O. leucotricha* explicó 76.9% de la variación en una sola función. El análisis discriminante detectó nueve variables; el mayor número de variables originales para

explicar el 100% de la variación de *O. streptacantha*; mientras que el análisis de *O. rastrera* y *O. cantabrigiensis* detectó solo cinco variables originales, y en *O. leucotricha* y *O. robusta* 4 ó 3 variables originales respectivamente para explicar la variación total (Tabla 4.6).

Las variables originales que presentaron correlaciones significativas con las funciones discriminantes en más de una especie fueron densidad estomática; grosor de cladodio, ancho de estomas, distancia entre aréolas y grosor del parénquima (Tabla 4.6).

Tabla 4.4. Clasificación de los individuos de las diferentes especies de *Opuntia* a través del análisis discriminante

ESPECIE	N	Pronóstico de membresía (%)				
		<i>O. cantabrigiensis</i>	<i>O. leucotricha</i>	<i>O. rastrera</i>	<i>O. robusta</i>	<i>O. streptacantha</i>
<i>O. cantabrigiensis</i>	41	100	0	0	0	0
<i>O. leucotricha</i>	54	0	100	0	0	0
<i>O. rastrera</i>	59	0	0	98.3	1.7	0
<i>O. robusta</i>	80	1.3	0	0	98.8	0
<i>O. streptacantha</i>	84	0	0	0	0	100

99.4% de los individuos fueron clasificados correctamente

Tabla 4.6. Análisis discriminante entre diferentes poblaciones silvestres de *Opuntia* con base en variables morfológicas y anatómicas.

Variable	Función Canónica Discriminante					
	1	2	1	2	1	2
Especie	<i>O. cantabrigiensis</i>		<i>O. leucotricha</i>		<i>O. rastrera</i>	
Eigenvalor	4.04	2.81	1.682	0.504	1.932	0.466
Porcentaje de variación explicada	58.9	41.1	76.9	23.1	80.6	19.4
Porcentaje de variación acumulada	58.9	100	76.9	100	80.6	100
Correlación Canónica	0.895	0.859	0.792	0.579	0.812	0.564
Variable Original	Matriz de estructura					
Grosor del cladodio			-0.330*	0.141	-0.636*	0.178
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha	-0.192*	-0.090				
Tamaño de la aréola	0.412	-0.492*				
Distancia entre aréolas	0.354*	0.265	0.327*	0.058		
Tamaño del gloquidio					0.471*	0.135
Número de espinas porrectas por aréola	0.173	0.387*				
Grosor del colénquima			0.050	0.439*		
Grosor del parénquima			-0.405*	-0.282		
Densidad estomática	0.378*	0.203	0.396*	-0.379		
Largo de estomas					0.089	-0.733*
Ancho de estomas			0.438	0.439*	0.022	0.317*
Área de estomas					0.266	-0.741*

*correlaciones significativas ($P < 0.01$) entre la variable original y la función canónica discriminante.

Tabla 4.6. Continuación

Variable	Función Canónica Discriminante			
	1	2	1	2
Especie	<i>O. robusta</i>		<i>O. streptacantha</i>	
Eigenvalor	2.071	1.437	3.289	1.319
Porcentaje de variación explicada	56.5	39.2	56	22.5
Porcentaje de variación acumulada	56.5	95.7	56	78.5
Correlación Canónica	0.821	0.768	0.876	0.754
Variable Original	Matriz de estructura			
Grosor del cladodio			0.159	0.282*
Distancia máxima de la parte basal a la mas ancha			0.115*	-0.020
Distancia entre aréolas	-0.630*	0.295		
Distancia entre líneas			0.072	0.202*
Número total de espinas por aréola			0.002	0.414*
Grosor de la epidermis			0.537*	-0.184
Grosor del colénquima			-0.370*	-0.016
Grosor del parénquima	0.407*	0.227		
Profundidad de la cripta estomática			-0.055	-0.129*
Densidad estomática	0.529*	0.075	0.575*	0.464
Ancho de estomas			0.140	-0.596*

*correlaciones significativas ($P < 0.01$) entre la variable original y la función discriminante.

El diagrama de dispersión de *O. cantabrigiensis* muestra que las tres poblaciones estudiadas presentan marcadas diferencias a través de las dos primeras funciones discriminantes. Por influencia de la función 1, las poblaciones de las localidades de El Rayo y Villa Hidalgo se encuentran ubicadas a la derecha en la Figura 4.6a ya que muestran mayor distancia de la parte basal a la parte más ancha del cladodio, distancia entre aréolas y densidad estomática que los individuos de la población de la localidad de Laguna de Guadalupe. La función discriminante 2 separa las poblaciones de Villa Hidalgo y el Rayo, que se distinguen por tener diferencias en el tamaño de las aréolas y en el número de espinas por aréola (Fig. 4.6a).

En el diagrama de dispersión de *O. leucotricha* se observa que la población de Laguna de Guadalupe se ubica en la parte superior derecha del gráfico por la influencia de la función discriminante 1. Esta población se caracteriza por presentar menor grosor de los cladodios y del parénquima, así como mayor densidad estomática y distancia entre aréolas en comparación con la población de Villa Hidalgo, la que se ubica en la parte superior izquierda del gráfico (Fig. 4.6b). En contraste, la población de El Rayo se encuentra distribuida ligeramente en la parte inferior del gráfico por efecto de la función discriminante 2, la cual se correlaciona con el grosor del colénquima y ancho de los estomas. Sin embargo, estas diferencias no son grandes puesto que se observa yuxtaposición con el resto de las poblaciones (Fig. 4.6b).

La población de *O. rastrera* de El Rayo se encuentra ubicada en la parte inferior derecha del gráfico (Fig. 4.6c), ya que presenta menor grosor de cladodio y sus gloquidios son de mayor tamaño comparado con las otras poblaciones. En contraste, la población de Villa Hidalgo muestra mayor grosor de cladodio y gloquidios pequeños. Por otro lado, los individuos de la población de Laguna de Guadalupe se yuxtaponen con los individuos de las otras poblaciones a pesar de tener estomas con mayor grosor pero menor área.

A pesar de que los individuos de las poblaciones de El Rayo y Laguna de Guadalupe de *O. robusta* se distinguen por tener diferencias en distancia entre líneas de aréolas, densidad de estomas, parénquima; los individuos de las poblaciones Paso de Cuarenta se yuxtaponen con los individuos de El Rayo y Laguna de Guadalupe, mientras que los individuos de Villa Hidalgo se yuxtaponen ligeramente con individuos de las tres poblaciones (Fig. 4.6d).

En *O. streptacantha* los individuos de la población de El Rayo se ubican a la derecha del gráfico por efecto de la función discriminante 1 y están claramente separados de las otras poblaciones por tener menor densidad estomática y grosor de epidermis, así como mayor grosor del colénquima. Los individuos de la población de Laguna de Guadalupe que se ubican en el gráfico en la esquina superior derecha, se diferencian de las poblaciones de Villa Hidalgo y Paso de Cuarenta por tener menor ancho de estomas y menor número de espinas totales por aréola. Estas últimas están completamente yuxtapuestas (Fig. 4.6e).

El pronóstico de membresía mostró que el 97.6 % de los individuos de *O. cantabrigiensis*, y el 90.4% de los individuos de *O. streptacantha* fueron clasificados correctamente. Por otro lado, las especies *O. leucotricha*, *O. rastrera* y *O. robusta* exhiben menor porcentaje de individuos clasificados correctamente (85.2, 79.7 y 77.5 %

respectivamente); debido a la similitud que existe entre los individuos de algunas poblaciones. En *O. leucotricha*, las poblaciones de El Rayo y Villa Hidalgo se traslapan ligeramente causando una reducción en el pronóstico de membresía. De la misma manera, en *O. rastrera* se sobreponen las poblaciones de Laguna de Guadalupe y Villa Hidalgo, en contraste con *O. robusta* donde la población de Paso de Cuarenta se sobrepone con el resto de las poblaciones (Tabla 4.7).

Por otra parte, en cada una de las especies se correlacionaron las variables originales con las variables ambientales, en *Opuntia cantabrigiensis*, las variables que fueron seleccionadas por el análisis discriminante y que estuvieron correlacionadas con al menos una variable ambiental; el tamaño de la areola se correlacionó con la temperatura media anual, la distancia entre aréolas y densidad estomática se correlacionó con la temperatura media anual y la precipitación pluvial; el número de espinas por aréola se correlacionó con la precipitación pluvial, temperatura media anual y la altitud; mientras que la distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio no estuvo correlacionada con las variables ambientales (Tabla 4.8 apéndice).

Las variables seleccionadas por el análisis discriminante de *O. leucotricha* que estuvieron correlacionadas con la precipitación pluvial, altitud y temperatura media anual son grosor del cladodio, grosor del colénquima y la densidad estomática sólo se correlacionó con la altitud, mientras que las variables que no están correlacionadas con las variables ambientales son ancho de estomas, grosor de parénquima y distancia entre aréolas (Tabla 4.9 apéndice). La variación registrada en *O. rastrera* es de origen ambiental, el tamaño del gloquidio se correlacionó con la precipitación pluvial, altitud y temperatura media anual mientras que el largo, ancho y área de estomas se correlacionó con la precipitación pluvial y temperatura media anual (Tabla 4.10 apéndice).

En *O. robusta* solo fueron seleccionadas las siguientes variables: distancia entre aréolas, grosor del parénquima y densidad estomática y las tres variables estuvieron correlacionadas con la precipitación pluvial (Tabla 4.11 apéndice). Por último, en *O. streptacantha* la distancia entre líneas de aréolas se correlacionó con la precipitación pluvial, altitud y temperatura media anual; el número total de espinas por aréola, grosor del colénquima y el ancho de estomas se correlacionó con la altitud y la temperatura media anual; el grosor de epidermis y la densidad estomática se correlacionó con la precipitación pluvial y

temperatura media anual, mientras que las variables: profundidad de la cripta estomática y distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio no mostraron correlación con el ambiente (Tabla 4.12 apéndice).

4.5.3. Densidad de poblaciones de diferentes especies de *Opuntia*.

Las poblaciones estudiadas se encuentran rodeadas por áreas de cultivo, en estas áreas esporádicamente se observan plantas de nopal que se encuentran en cercos vivos o en traspatios de los habitantes de estas zonas, por lo cual es posible que algunas de estas poblaciones formaran poblaciones continuas.

La localidad que posee mayor densidad estimada es El Rayo con 2458 individuos por hectárea, mientras que en Paso de Cuarenta solo se registraron 179 individuos por hectárea. Por otro lado, Laguna de Guadalupe y Villa Hidalgo tienen densidades intermedias entre ambas localidades puesto que existen 710 y 680 individuos por hectárea, respectivamente.

La especie con la mayor densidad fue *O. streptacantha* con un promedio de 596 individuos por hectárea, debido a la densidad de ésta especie registrada en El Rayo, donde existen hasta 1852 individuos por hectárea siendo ésta la población con mayor densidad del área de estudio para cualquiera de las especies. Después de *O. streptacantha*, las especies *O. robusta* y *O. leucotricha* fueron las especies con densidades intermedias, con 138 y 112 individuos por hectárea respectivamente, mientras que el resto de las especies muestran densidades bajas ya que las densidades estimadas de *O. rastrera* y *O. joconostle* fueron de 71 y 67 individuos por hectárea. Sin embargo, la especie con la menor densidad fue *O. cantabrigiensis* que solo posee 23 individuos por hectárea (Tabla 4.13 apéndice).

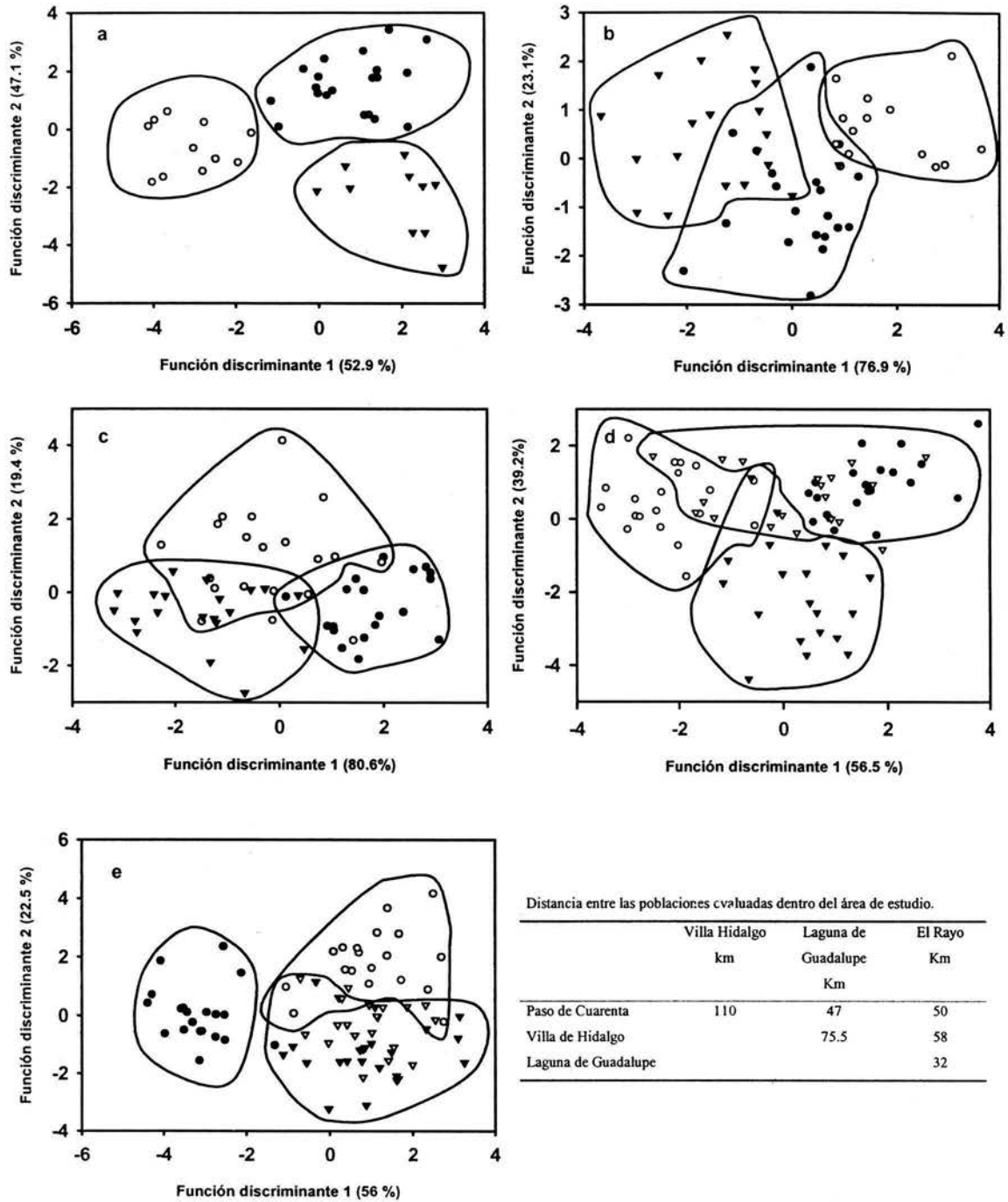


Figura 4.6. Diagrama de dispersión de las funciones canónicas discriminantes 1 y 2 en las poblaciones de Paso de Cuarenta (∇), Villa Hidalgo (\blacktriangledown), Laguna de Guadalupe (O) y El Rayo (\bullet) de a) *O. cantabrigiensis*, b) *O. leucotricha*, c) *O. rastrera*, d) *O. robusta* y e) *O. streptacantha*.

Tabla 4.7. Clasificación de los individuos de las diferentes poblaciones silvestres de *Opuntia* a través del análisis discriminante en las localidades de El Rayo, Laguna de Guadalupe, Villa Hidalgo y Paso de Cuarenta.

Población	N	Pronóstico de membresía (%) de <i>O. cantabrigiensis</i>			
		EL Rayo	Laguna de Guadalupe	Villa Hidalgo	Paso de Cuarenta
El Rayo	20	100	0	0	
Laguna de Guadalupe	11	0	100	0	
Villa Hidalgo	10	0	0	100	
	97.6%	individuos clasificados correctamente			
		Pronóstico de membresía (%) de <i>O. leucotricha</i>			
El Rayo	20	80	5	15	
Laguna de Guadalupe	14	0	100	0	
Villa Hidalgo	20	15	5	80	
	85.2%	individuos clasificados correctamente			
		Pronóstico de membresía (%) de <i>O. rastrera</i>			
El Rayo	19	94.7	5.3	0	
Laguna de Guadalupe	20	10	65	25	
Villa Hidalgo	20	5	15	80	
	79.7%	individuos clasificados correctamente			
		Pronóstico de membresía (%) de <i>O. robusta</i>			
EL Rayo	20	85	0	0	15
Laguna de Guadalupe	20	0	95	0	5
Villa Hidalgo	20	0	0	90	10
Paso de Cuarenta	20	35	25	0	40
	77.5%	individuos clasificados correctamente			
		Pronóstico de membresía (%) de <i>O. streptacantha</i>			
El Rayo	20	100	0	0	0
Laguna de Guadalupe	19	0	89.5	5.3	5.3
Villa Hidalgo	24	0	5	87.5	4.2
Paso de Cuarenta	20	0	5	10	85
	90.4%	individuos clasificados correctamente			

Tabla 4.13. Densidad estimada (individuos por hectárea) de cada especie en las diferentes localidades muestreadas.

	El Rayo	Villa Hidalgo	Laguna de Guadalupe	Paso de Cuarenta	Densidad Promedio por especie
<i>O. cantabrigiensis</i>	56	13	25	0	24
<i>O. leucotricha</i>	142	287	19	0	112
<i>O. rastrera</i>	25	87	173	0	71
<i>O. robusta</i>	142	106	241	62	138
<i>O. streptacantha</i>	1852	198	216	117	596

4.6. DISCUSIÓN

El análisis discriminante de las especies estudiadas explicó el 94.1 de la variación total y reveló que de forma general se clasifican correctamente el 99.4 % de los individuos. Este porcentaje de variación explicada y el porcentaje de individuos correctamente clasificados es similar al obtenido en el estudio realizado en la familia Salicaceae, (Thiébaut, 2000).

El hecho de tener porcentajes altos de variación explicada y tener un análisis de membresía donde el porcentaje de individuos que se clasifican correctamente es alto, revela que; no existen fenotipos intermedios entre las especies que evidencien la formación recurrente de híbridos. Ya que, el 100% de los individuos de las especies *O. cantabrigiensis*, *O. leucotricha* y *O. streptacantha* fueron clasificados correctamente, y sólo pocos individuos de *O. robusta* y *O. rastrera* no fueron clasificados correctamente.

En contraste, con estudios similares como los realizados con *Wikstroemia* spp. se observa variabilidad continua entre estos grupos y no se logra agrupar conjuntos naturales de individuos por la presencia de enjambres híbridos y de amplias normas de reacción (Mayer, 1991).

Los individuos clasificados erróneamente se debe a que no se utilizaron en este análisis variables cualitativas como el hábito de crecimiento y el color de las espinas debido a que este tipo de análisis es un método multivariable que tiene como supuesto trabajar con distribuciones normales y variables continuas (Hair *et al.*, 1999; Thiébuat, 2000).

Solo un individuo de *O. rastrera* que representa el 1.7 % fue clasificado como *O. robusta*, y un individuo de *O. robusta* fue clasificado como *O. cantabrigiensis*. El hábito de crecimiento y el color de las espinas difiere entre *O. rastrera* y *O. robusta*. Así el hábito de crecimiento de la primera es rastrero, con la base de las espinas de color café mientras que la segunda es arbustiva con espinas blancas o amarillentas. Por otro lado, *O. robusta* difiere de *O. cantabrigiensis* por el color de las espinas, puesto que en la primer especie son de blancas a amarillentas y en la segunda son amarillas (Bravo, 1978).

La demarcación clara y precisa de las especies en los gráficos de dispersión y en los análisis de membresía evidencian que la hibridación entre especies no es un fenómeno frecuente en el área de estudio, puesto que no se observa esta variabilidad continua entre especies. Además, no se observaron fenotipos intermedios entre las especies estudiadas como

los que se observan en estudios de hibridación (Mayer *et al.*, 2000, Rebman y Pinkava, 2001, Borazan y Babaç, 2003).

Por otro lado, se observó con base en los gráficos de dispersión y a los análisis de membresía que las poblaciones de *O. cantabrigiensis*, se encuentran diferenciadas debido a que no existe yuxtaposición en los gráficos de dispersión y además el 100% de sus individuos fueron clasificados correctamente, de igual forma se observa perfectamente delimitada una población de *O. leucotricha* y otra de *O. streptacantha*, en el resto de las poblaciones se observa yuxtaposición en los gráficos de dispersión y pronósticos de membresía menores al 100%.

Es importante hacer notar que no existe relación entre la distancia en que se encuentran separadas las poblaciones con la diferenciación de las mismas, puesto que en las poblaciones de *O. streptacantha* que se ubican en Paso de Cuarenta, Laguna de Guadalupe y Villa Hidalgo se observa yuxtaposición entre estas poblaciones a pesar de estar separadas hasta por 110 km, mientras que la población de El Rayo no muestra yuxtaposición con ninguna población incluyendo a la población de Laguna de Guadalupe que se encuentra a 32 km de distancia.

De manera similar se observa que en poblaciones de *O. leucotricha* separadas por 58 km hay yuxtaposición entre ambas poblaciones y no existe yuxtaposición en poblaciones separadas por 32 km, este fenómeno se presenta de manera similar en diversos organismos, debido a que el aislamiento puede producir divergencias a nivel morfológico en tiempos relativamente cortos en por ejemplo en el pez *Gasterosteus aculeatus* se observaron divergencias morfológicas en 12 generaciones del pez, después de que el embalse donde se distribuye la dicha especie se dividió por medio de un dique (Kristjánsson *et al.*, 2002) en plantas, se ha observado diferenciación morfológica entre poblaciones en las que el flujo genérico es restringido y en los diferentes sitios donde se distribuyen las poblaciones existen diferencias en humedad, temperatura y elevación, dando como resultado la formación de ecotipos (Linhart y Grant, 1996).

Ramírez y Pimienta, en 1995 llevaron a cabo comparaciones en variables anatómicas de variedades cultivadas de *Opuntia* que fueron sembradas en tres ambientes diferentes, en el cual concluyeron que el grosor del cladodio, ancho de estomas, densidad estomática, grosor de la epidermis y grosor del colénquima, variables seleccionadas por el análisis discriminante en

las cinco especies estudiadas, son consideradas estables por su poca plasticidad fenotípica, puesto que son poco afectadas por el ambiente (Ramírez y Pimienta 1995). En contraste, las variables grosor de cutícula y profundidad de la cripta estomática que son influenciadas por el grado de aridez (Ramírez y Pimienta, 1995)

Debido a que estas variables no son modificados por el ambiente existe la posibilidad de que exista selección para la formación de ecotipos o razas como los que ocurren en *Sticherus flabellatus* y *Apocynum cannabinum* que forman ecotipos principalmente por influencia de la heterogeneidad ambiental, en cada uno de los sitios (Ransom, *et al.*, 1998; Keiper y Mc Conchie, 2001) o como en *Pinus flexilis* y *Hordeum bulbosum* que muestran que existe variación clinal en diferentes atributos morfológicos a través del gradiente altitudinal (Craig *et al.*, 1984; Schoettle y Rochelle, 2000), o en *Prunus mahaleb* a través de un gradiente de humedad (Kollmann y Pflugshaupt, 2001).

En las especies *O. streptacantha*, y *O. leucotricha* se observa que no existe yuxtaposición en una población, mientras que en *O. cantabrigiensis*, no existe yuxtaposición en ninguna de las poblaciones, estas tres especies se caracterizan porque el análisis discriminante seleccionó las variables: distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio, ancho de estomas, grosor de parénquima y distancia entre aréolas que en estas especies; variables que pueden no estar correlacionadas con el ambiente, considerando además que, las densidades de las poblaciones son bajas excepto en *O. streptacantha* en la población de EL Rayo ya que los datos de abundancia son comparables con los de las especies de *Neobuxbaumia* o de *Polaskia chende* que crecen en la reserva de la biosfera Tehuacan-Cuicatlán (Esparza-Olguín y Valverde, 2003 y Mandujano *et al.*, 2004).

El tamaño reducido de estas poblaciones, y el aislamiento geográfico que se observa en las especies estudiadas, favorecen la divergencia estructural entre poblaciones, de manera similar a la deriva genética que es un proceso evolutivo que ocurre bajo las mismas condiciones y que podría expresarse por las diferencias fenotípicas encontradas que no están correlacionadas con el ambiente, sin embargo, este fenómeno no ha sido asociado a trabajos de variación morfológica, por lo cual no podemos confirmar que suceda este proceso (Max *et al.*, 1999).

Concluimos que la hibridación en la porción sur del Desierto Chihuahuense no es común entre las principales especies silvestres, además, existe variación clinal que responde a

los gradientes generados por precipitación pluvial, altitud y temperatura media anual. Sin embargo, existen variables que no se correlacionaron con el ambiente en poblaciones pequeñas que se encuentran aisladas por varios kilómetros, este patrón de variación es similar al de la deriva genética no obstante para afirmar este último punto es necesario llevar a cabo estudios sobre genética de poblaciones a escala molecular para confirmar esta hipótesis.

4.7. LITERATURA CITADA

- Borazan, A. y M. T. Babaç. 2003.** Morphometric leaf variation in oaks (*Quercus*) of Bolu Turkey. *Annales Botanici Fennici* 40:233-242.
- Bravo, H. H. 1978.** *Las Cactáceas de México*, Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Britton, N. L. y J. N. Rose. 1963.** *The Cactaceae Descriptions and Illustrations of Plant of Cactus Family*. Dover Publications, Inc. Nueva York, U. S. A.
- Brower, J. B., J. H. Zar C. N. von Ende. 1997.** *Field and Laboratory Methods of General Ecology*. Mc Graw-Hill. U. S. A.
- Craig, I. L., G. Fedak y P. Jui. 1984.** Morphological variation in diploid *Hordeum bulbosum* L. collected in Spain [Bulbous barley, phenotypic variation, natural populations]. *Euphytica* 33 (1): 99-106.
- Esparza-Olguín, L y T. Valverde. 2003.** Estudio comparativo de la fenología de tres especies de *Neobuxbaumia* que difieren en su nivel de rareza. *Cactaceas y Suculentas Mexicanas* 48(3):68-83.
- Gastó, C. J., R. Nava C. y J. J. López. 1981.** Proceso de carga y descarga frutal e poblaciones naturales de *Opuntia streptacantha*. Lemaire. *Monografía Técnico Científica. Serie Recursos Naturales. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro* (4): 170-216
- Gibson, A. y P. S. Nobel. 1986.** *The Cactus Primer*. Harvard University Press. Cambridge, U. S. A.
- Grant, V. y K. A. Grant. 1979.** Hibridization and variation in the *Opuntia phaeacantha* group in Central Texas. *Botanical Gazette* 140: 208-215.
- Grant, V. y K. A. Grant. 1980.** Clonal microspecies of hybrid origin of *Opuntia lindheimeri* group. *Botanical Gazette* 141: 101-106.
- Griffith P. M. 2001.** A new Chihuahuan desert hybrid prickly pear. *Opuntia xrooneyi* (Cactaceae). *Cactus and Succulent Journal (U. S. A.)* 6: 307-310.
- Hair, J. F., R. E. Anderson, R. L. Tatham y W. C. Black. 1999.** *Análisis Multivariante*. Prentice Hall. Madrid, España.

- Hodálová, I. y K. Marhold. 1998.** Morphometric comparison of *Senecio germanicus* and *S. nemorensis* (Compositae) with a new species from Romania. *Botanical Journal of the Linnean Society* 128: 277-290.
- INEGI. 1981.** *Síntesis geográfica de Jalisco*. Secretaría de Programación y Presupuesto, México, D. F.
- Janzen, D. H. 1986.** Chihuahuan desert nopaleras: defaunated big mammal vegetation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 595-636.
- Keiper, F. J. y R. McConchie. 2001.** Morphological variation among *Sticherus flabellatus* (Gleicheniaceae) populations of the Sydney region. *Australian Journal of Botany* 49 (1): 89-105.
- Kristjánsson, B. K. , S. Skúlason y D. L. G. Noakes. 2002.** Rapid divergence in a recently isolated population of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) *Evolutionary Ecology Research*, 4: 659–672.
- Kollmann, J. y K. Pflugshaupt. 2001.** Flower and fruit characteristics in small and isolated populations of a fleshy-fruited shrub. *Plant Biology* 3: 62-71.
- Linhart, Y. B. y M. C. Grant. 1996.** Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:237-277.
- Marroquín, S. J., L. Borja, C. R. Velázquez y J. A. De la Cruz. 1964.** *Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México*. Publicación especial Número 2 INIF, SARH, México.
- Mandujano, M. C., J. Golubov, C. Rodríguez-Ortega, J. Reyes, G. Aguilar y M. Rojas-Aréchiga. 2004.** Estructura poblacional y distribución de poblaciones de *Polaskia chende* (Gosselin) Backeb., en un municipio dentro de la reserva de la biosfera de Tehuacan-Cuicatlán. *Cactaceas y Suculentas Mexicanas* 49(2):36-60.
- Mayer, S. S. 1991.** Morphological variation in Hawaiian *Wikstroemia* (Thymelaeaceae). *Systematic Botany* 16 (4): 693-704.
- Mayer. M. S., L. M. Williams y J. P. Rebman. 2000.** Molecular evidence for the hybrid origin of *Opuntia prolifera* (Cactaceae). *Madroño* 47 (2): 109-115.
- Max, K. N., S. K. Mouchaty y K. E. Schwaegerle 1999.** Allozyme and morphological variation in two Subspecies of *Dryas octopetala* (Rosaceae) in Alaska. *American Journal of Botany* 86(11): 1637–1644.

- Mc Leod, M. G. 1975.** A new hybrid freshly fruited prickly-pear in California. *Madroño* 23: 96-98.
- Muñoz-Urias, A., García-Velázquez. y E. Pimienta-Barrios. 1995.** Relación entre el nivel de ploidía y variables anatómicas y morfológicas en especies silvestres y cultivadas de nopal tunero (*Opuntia* spp.). En: Pimienta-Barrios E., C. Neri-Luna, A. Muñoz-Urias y F.M. Huerta-Martínez (comp.). *Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal 6to Congreso Nacional y 4to Internacional*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México pp: 7-11.
- Okada, M., T. K. Lowrey y R. Whitkus. 2000.** Quantitative morphological variation in *Tetramolopium* (Asteraceae) in Hawaii and the Cook Islands. *Plant Systematic and Evolution* 221: 1-13.
- Palomino, G. y H. M. Heras. 2001.** Karyotypic studies in *Opuntia cochinera*, *O. hyptiacantha*, and *O. streptacantha* (Cactaceae). *Caryologia* 54 (2): 147-154.
- Parffit, B. D. 1980.** Origin of *Opuntia curvospina* (Cactaceae). *Systematic Botany* 5 (4): 408-418.
- Pimienta-Barrios, E. 1990.** *El nopal tunero*. Serie libros tiempos de ciencia, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
- Pimienta-Barrios, E. 1994.** Prickly pear (*Opuntia* spp.): a valuable fruit crop for the semi-arid lands of Mexico. *Journal of Arid Environments* 27: 1-11.
- Pimienta-Barrios, E. y R. Mauricio-Leguizano. 1989.** Variación en componentes del fruto maduro entre formas de nopal (*Opuntia* spp.) tunero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 12: 183-196.
- Pimienta-Barrios, E., y A. Muñoz-Urias. 1995.** Domestications of opuntias and cultivated varieties. En: G. Barbera, P. Inglese, E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO publications, Roma Italia. pp: 58-61.
- Pinkava, D. J y M. G. Mc Leod. 1971.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. *Brittonia* 23: 171-176.
- Pinkava, D. J., B. D: Parffit, M. A. Baker y R. D. Worthington. 1992.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. VI with nomenclatural changes. *Madroño* 39 (2): 98-113.

- Pinkava, D. J., M. A. Baker, B. D. Parffit y M. W. Mohlenbrock. 1985.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. V. *Systematic Botany* 10 (4): 471-483.
- Pinkava; D. J., L. A. Mc Gill, T. Reeves y M. G. Mc Leod. 1977.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. III. *Bulletin of Torrey Botanical Club* 104 (2): 105-110.
- Pinkava; D. J., M. G. Mc Leod, L. A. Mc Gill y R. C. Brown. 1973.** Chromosome numbers in some cacti of western North America. II. *Brittonia* 25: 2-9.
- Ransom, C. V., J. J. Kells, L. M. Wax y M. S. Orfanedes. 1998.** Morphological variation among hemp dogbane (*Apocynum cannabinum*) populations. *Weed Science* 45: 71-75.
- Ramírez, A. J. P. y E. Pimienta B. 1995.** El efecto del grado de aridez en la anatomía de cladodios de morfoespecies de nopal (*Opuntia* spp). En: Pimienta-Barrios E., C. Neri-Luna, A. Muñoz-Urias y F. M. Huerta-Martínez (comp.). *Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Memorias del 6to. Congreso Nacional y 4to Congreso Internacional.* Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. México. pp: 90-99.
- Rebman, J. P. y D. J. Pinkava, 2001.** *Opuntia* cacti of North America—an overview. *Florida Entomologist* 84 (4): 474-483.
- Rzedowski, J. 1978.** *Vegetación de México.* LIMUSA, México, D. F.
- Scheinvar, L. 1995.** Taxonomy of utilized *Opuntias*. En: Barbera, G., P. Inglese, E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear.* FAO Plant Production and protection paper 132. Rome. pp: 20-27
- Schoettle, A. W. y S. G. Rochelle. 2000.** Morphological variation of *Pinus flexilis* (Pinaceae), a bird-dispersed pine, across a range of elevations. *American Journal of Botany.* 87 (12): 1797-1806.
- Selin, E. 2000.** Morphometric differentiation between populations of *Papaver radicum* (Papaveraceae) in northern Scandinavia. *Journal of the Linnean Society* 133: 263-284.
- Sosa, R. y A. Acosta. 1966.** Poliploidía en *Opuntia* spp. *Agrociencia* 1: 100-106.
- Starmer, W. T., R. A. Schmedicke y M. Lachance. 2003.** The origin of the cactus-yeast community. *FEMS Yeast Research* 3 (4): 441-448.

- Thiébaud, M. 2000.** A Foliar morphometric approach to the study of salicaceae. *The Botanical Review* 66 (3): 423-439.
- Young, A., T. Boyle y T. Brown. 1996.** The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution* 11 (10): 413-418.
- Zar, J. H. 1984.** *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, New Jersey, U. S. A.

Tabla 4.5. Variables anatómicas y morfológicas estudiadas de las diferentes especies de *Opuntia* en la porción sur del Desierto Chihuahuense

Especie	<i>O. cantabrigiensis</i>				
	Localidad	El Rayo <i>n</i> =20	Laguna de Guadalupe <i>n</i> =11	Villa Hidalgo <i>n</i> =10	Total <i>n</i> =41
Altura del tallo (cm)*		17.00±1.37	15.45±4.27	20.20±2.71	17.37±1.46
Largo del cladodio (cm)*		18.65±0.63	20.45±2.19	19.20±1.12	19.27±0.70
Ancho del cladodio (cm)*		17.00±0.59	19.18±1.91	17.80±1.21	17.78±0.65
Grosor del cladodio (cm)*		0.94±0.09	1.52±0.25	1.28±0.09	1.18±0.09
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio*		11.45±0.55	14.82±1.35	10.80±0.57	12.20±0.52
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio*		13.55±0.66	17.18±1.74	14.10±0.89	14.66±0.64
Serie de espirales por cara del cladodio**		7	6	7	7
Distancia entre líneas de aréolas (cm)*		2.58±0.19	1.05±0.22	2.31±0.10	2.10±0.15
Número total de espinas por areola**		5	5	6	5
Grosor de cutícula (µm)*		9.84±0.50	6.49±0.47	8.25±0.75	8.56±0.39
Grosor de epidermis (µm)*		11.87±0.68	14.56±1.02	14.75±0.79	13.29±0.51
Grosor del colénquima (µm)*		118.98±5.51	98.25±3.97	111.50±8.35	111.60±3.71
Grosor del parénquima (µm)*		2689.55±102.52	2697.54±130.24	2363.00±182.90	2612.04±76.87
Profundidad de la cripta estomática (µm)*		9.84±0.50	6.44±0.46	0.00±0.00	6.53±0.68
Densidad de estomas (estomas.mm ²)*		36.95±1.51	26.94±0.84	34.96±1.10	33.78±1.04
Largo de estomas (µm)*		34.84±1.02	26.49±1.00	31.27±0.75	31.73±0.80
Ancho de estomas (µm)*		26.34±1.02	28.64±1.19	25.67±0.71	26.79±0.63
Área estomática (µm ²)*		747.89±45.57	867.18±52.40	638.99±25.96	753.33±29.48

*Los datos de variables discretas son modas.

**Los datos de variables continuas son promedio ± error estándar de la media.

Tabla 4.5. Continuación

Especie	<i>O. leucotricha</i>			
	Localidad	El Rayo <i>n</i> =20	Laguna de Guadalupe <i>n</i> =14	Villa Hidalgo <i>n</i> =20
Altura del tallo (cm)*	80.00 \pm 6.37	25.79 \pm 3.19	26.90 \pm 2.27	46.28 \pm 4.40
Largo del cladodio (cm)*	21.40 \pm 0.97	23.86 \pm 0.86	19.65 \pm 0.73	21.39 \pm 0.54
Ancho del cladodio (cm)*	15.73 \pm 0.66	18.79 \pm 0.61	15.72 \pm 1.12	16.52 \pm 0.53
Grosor del cladodio (cm)*	0.89 \pm 0.05	1.06 \pm 0.12	1.15 \pm 0.08	1.03 \pm 0.05
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio*	13.00 \pm 0.66	14.21 \pm 0.78	12.80 \pm 0.56	13.24 \pm 0.38
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio*	14.10 \pm 0.50	16.36 \pm 0.71	14.30 \pm 0.68	14.76 \pm 0.38
Serie de espirales por cara del cladodio**	16	14	15	14
Distancia entre líneas de aréolas (cm)*	0.93 \pm 0.08	1.00 \pm 0.22	0.75 \pm 0.08	0.88 \pm 0.07
Número total de espinas por areola**	7	6	8	6
Grosor de cutícula (μ m)*	12.83 \pm 1.13	10.06 \pm 0.76	10.71 \pm 0.71	11.33 \pm 0.55
Grosor de epidermis (μ m)*	11.68 \pm 0.76	10.75 \pm 0.39	11.77 \pm 0.58	11.47 \pm 0.37
Grosor del colénquima (μ m)*	81.74 \pm 3.16	96.50 \pm 4.52	97.66 \pm 3.83	91.46 \pm 2.37
Grosor del parénquima (μ m)*	2613.69 \pm 119.90	1992.24 \pm 146.30	2742.06 \pm 131.49	2500.12 \pm 85.59
Profundidad de la cripta estomática (μ m)*	16.21 \pm 0.76	17.65 \pm 1.74	10.62 \pm 1.89	14.51 \pm 0.96
Densidad de estomas (estomas.mm ²)*	20.16 \pm 1.06	20.51 \pm 0.66	16.40 \pm 0.42	18.86 \pm 0.52
Largo de estomas (μ m)*	47.67 \pm 1.34	45.63 \pm 0.98	48.50 \pm 1.33	47.45 \pm 0.75
Ancho de estomas (μ m)*	29.63 \pm 0.61	35.15 \pm 1.11	29.38 \pm 1.06	30.97 \pm 0.63
Área estomática (μ m ²)*	1182.36 \pm 50.12	1289.39 \pm 54.07	1200.09 \pm 49.20	1216.68 \pm 29.61

*Los datos de variables discretas son modas.

**Los datos de variables continuas son promedio \pm error estándar de la media

Tabla 4.5. Continuación

Especie	<i>O. rastrera</i>			
	Localidad	El Rayo <i>n</i> =19	Laguna de Guadalupe <i>n</i> =20	Villa Hidalgo <i>n</i> =20
Altura del tallo (cm)*	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Largo del cladodio (cm)*	19.21±0.58	23.15±2.96	20.50±0.72	20.98±1.05
Ancho del cladodio (cm)*	17.89±0.51	19.35±0.98	17.50±0.46	18.25±0.41
Grosor del cladodio (cm)*	0.96±0.07	1.54±0.09	1.75±0.09	1.42±0.07
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio*	12.63±0.45	13.25±0.61	13.05±0.42	12.98±0.29
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio*	13.49±1.01	15.70±0.83	14.65±0.44	14.63±0.46
Serie de espirales por cara del cladodio**	6	6	6	6
Distancia entre líneas de aréolas (cm)*	2.63±0.14	2.61±0.14	2.19±0.16	2.47±0.09
Número total de espinas por areola**	3	3	4	3
Grosor de cutícula (µm)*	7.62±0.43	9.25±0.48	8.36±0.34	8.42±0.26
Grosor de epidermis (µm)*	11.88±0.58	16.25±1.35	15.12±1.63	14.46±0.77
Grosor del colénquima (µm)*	125.35±5.83	116.13±4.60	132.42±5.46	124.62±3.14
Grosor del parénquima (µm)*	3295.85±289.40	2717.50±151.02	3281.86±136.80	3095.06±119.34
Profundidad de la cripta estomática (µm)*	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Densidad de estomas (estomas.mm ²)*	17.11±0.55	18.00±0.56	18.65±0.60	17.93±0.33
Largo de estomas (µm)*	49.88±1.13	42.00±2.20	48.73±1.06	46.82±1.00
Ancho de estomas (µm)*	33.83±0.68	24.38±1.88	27.50±0.99	28.48±0.90
Área estomática (µm ²)*	1383.59±49.92	919.84±94.02	1152.78±54.45	1148.14±46.61

*Los datos de variables discretas son modas.

**Los datos de variables continuas son promedio ± error estándar de la media

Tabla 4.5. Continuación

Especie	<i>O. robusta</i>					
	Localidad	El Rayo	Laguna de Guadalupe	Villa Hidalgo	Paso de Cuarenta	Total
		<i>n</i> =20	<i>n</i> =20	<i>n</i> =20	<i>n</i> =20	<i>n</i> =80
Altura del tallo (cm)*		21.45±1.46	24.10±1.47	15.30±1.65	12.80±1.79	18.41±0.94
Largo del cladodio (cm)*		28.15±0.88	27.55±0.87	27.10±1.06	29.45±0.67	28.06±0.44
Ancho del cladodio (cm)*		26.15±0.85	26.60±1.05	25.55±0.90	26.06±1.46	26.09±0.54
Grosor del cladodio (cm)*		1.62±0.17	2.37±0.12	2.40±0.17	1.54±0.13	1.98±0.09
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio*		18.10±0.62	19.10±0.79	18.10±0.78	20.55±0.74	18.96±0.38
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio*		19.70±0.75	19.90±0.92	20.40±0.85	21.45±0.89	20.36±0.43
Serie de espirales por cara del cladodio**		7	8	6	8	7
Distancia entre líneas de aréolas (cm)*		3.45±0.14	5.20±0.17	3.79±0.21	4.14±0.22	4.14±0.12
Número total de espinas por areola**		5	7	5	4	5
Grosor de cutícula (µm)*		10.13±0.34	9.36±0.49	8.97±0.51	8.20±0.44	9.17±0.23
Grosor de epidermis (µm)*		13.12±0.77	12.26±0.49	12.93±0.58	14.19±1.01	13.12±0.37
Grosor del colénquima (µm)*		145.62±7.60	121.49±4.13	167.23±9.49	141.66±5.99	144.00±3.92
Grosor del parénquima (µm)*		4049.49±120.52	3095.27±112.19	3357.85±140.56	3692.00±133.51	3548.65±74.26
Profundidad de la cripta estomática (µm)*		0.77±0.55	0.29±0.29	11.97±1.06	1.45±0.83	3.62±0.65
Densidad de estomas (estomas.mm ²)*		34.95±1.53	22.00±1.10	27.75±0.93	28.85±1.90	28.39±0.87
Largo de estomas (µm)*		38.60±0.86	44.39±1.21	34.26±1.30	43.62±1.57	40.22±0.77
Ancho de estomas (µm)*		27.41±1.23	30.11±0.92	32.33±0.71	31.85±1.11	30.42±0.54
Área estomática (µm ²)*		868.72±46.78	1099.49±47.15	1089.66±35.60	1141.00±73.13	1049.72±28.39

*Los datos de variables discretas son modas.

**Los datos de variables continuas son promedio ± error estándar de la media

Tabla 4.5. Continuación

Especie	<i>O. streptacantha</i>					
	Localidad	El Rayo <i>n</i> =20	Laguna de Guadalupe <i>n</i> =19	Villa Hidalgo <i>n</i> =24	Paso de Cuarenta <i>n</i> =20	Total <i>n</i> =83
Altura del tallo (cm)*		149.60±22.98	136.50±13.36	53.13±4.01	46.05±3.65	94.26±8.18
Largo del cladodio (cm)*		27.95±1.03	30.25±0.78	30.13±0.78	30.60±0.67	29.75±0.42
Ancho del cladodio (cm)*		22.10±0.82	24.70±0.56	21.96±0.69	22.58±0.71	22.79±0.36
Grosor del cladodio (cm)*		1.84±0.13	2.48±0.09	2.16±0.09	1.77±0.09	2.07±0.06
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio*		16.25±0.64	16.85±0.63	16.50±0.49	17.75±0.60	16.82±0.29
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio*		19.50±0.76	20.65±0.64	20.83±0.78	21.45±0.48	20.62±0.35
Serie de espirales por cara del cladodio**		8	9	10	10	10
Distancia entre líneas de aréolas (cm)*		2.27±0.09	2.45±0.09	2.06±0.09	2.67±0.21	2.35±0.07
Número total de espinas por areola**		5	7	6	5	6
Grosor de cutícula (µm)*		13.45±0.90	20.20±1.71	19.67±0.90	22.10±1.23	18.89±0.69
Grosor de epidermis (µm)*		11.85±0.73	20.30±1.46	22.04±1.31	22.35±1.40	19.27±0.78
Grosor del colénquima (µm)*		110.65±2.65	87.20±2.91	86.46±2.85	97.35±3.28	94.99±1.79
Grosor del parénquima (µm)*		3427.05±67.78	4160.80±162.46	3741.79±148.49	4136.60±171.27	3860.62±78.09
Profundidad de la cripta estomática (µm)*		32.65±1.31	30.05±1.33	33.29±1.12	29.45±2.15	31.45±0.76
Densidad de estomas (estomas.mm ²)*		24.15±0.79	36.95±1.18	30.29±0.77	34.50±1.00	31.42±0.69
Largo de estomas (µm)*		46.40±0.93	41.75±0.59	46.58±1.00	49.35±1.46	46.05±0.59
Ancho de estomas (µm)*		21.70±0.97	18.50±1.13	26.25±1.00	29.80±1.33	24.17±0.71
Área estomática (µm ²)*		929.25±38.34	724.20±35.84	1059.54±47.22	1247.60±70.48	993.45±31.90

*Los datos de variables discretas son modas.

**Los datos de variables continuas son promedio ± error estándar de la media

Tabla 4.8. Coeficientes de correlación entre las variables climáticas y las variables morfológicas y anatómicas de *Opuntia cantabrigiensis*

Variables morfológicas y anatómicas	Precipitación pluvial (mm)	Altitud (m snm)	Temperatura Media anual (°C)
Altura del tallo ^a	-0.046	-0.151	0.000
Largo del cladodio ^a	-0.132	-0.035 *	-0.153
Ancho del cladodio ^a	-0.180	-0.059	-0.205
Grosor del cladodio ^a	-0.408 **	-0.210	-0.437 **
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio ^a	-0.203	0.122	-0.304
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio ^a	-0.257	-0.020	-0.319 *
Distancia entre aréolas ^a	0.473 **	0.054	0.579 **
Distancia entre líneas de aréolas ^a	-0.383 *	-0.717 **	-0.209
Tamaño de la aréola ^a	0.234	-0.072	0.325 *
Número de espinas porrectas ^b	0.462 **	0.462 **	0.475 **
Grosor de cutícula ^a	0.497 **	0.212	0.548 **
Grosor de epidermis ^a	-0.433 **	-0.338 *	-0.419 **
Grosor del colénquima ^a	0.299	0.097	0.342 *
Grosor del parénquima ^a	0.165	0.279	0.101
Profundidad de la cripta estomática ^a	0.768 **	0.914 **	0.622 **
Densidad de estomática ^a	0.452 **	0.064	0.549 **
Largo de estomas ^a	0.585 **	0.226	0.655 **
Ancho de estomas ^a	-0.100	0.094	-0.163
Área estomática ^a	-0.012	0.268	-0.118

* Correlaciones significativas (P<0.05)

** Correlaciones significativas (P<0.01)

^a Correlación de Pearson

^b Correlación de Kendall

Tabla 4.9. Coeficientes de correlación entre las variables climáticas y las variables morfológicas y anatómicas de *Opuntia leucotricha*

VARIABLES MORFOLÓGICAS Y ANATÓMICAS	Precipitación pluvial (mm)	Altitud (m snm)	Temperatura Media anual (°C)
Altura del tallo ^a	0.807 **	0.598 **	0.787 **
Largo del cladodio ^a	0.020	0.276 *	-0.098
Ancho del cladodio ^a	-0.143	0.087	-0.226
Grosor del cladodio ^a	-0.316 *	-0.295 *	-0.281 *
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio ^a	-0.058	0.082	-0.113
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio ^a	-0.170	0.054	-0.248
Distancia entre aréolas ^a	0.080	0.181	0.023
Distancia entre líneas de aréolas ^a	0.229	0.101	0.254
Grosor de cutícula ^a	0.287 *	0.176	0.296 *
Grosor de epidermis ^a	0.052	-0.055	0.093
Grosor del colénquima ^a	-0.433 **	-0.342 *	-0.413 **
Grosor del parénquima ^a	0.119	-0.205	0.249
Profundidad de la cripta estomática ^a	0.204	0.400 **	0.087
Densidad de estomática ^a	0.283	0.480 **	0.155
Largo de estomas ^a	0.022	-0.113	0.080
Ancho de estomas ^a	-0.204	0.157	-0.338 *
Área estomática ^a	-0.115	0.015	-0.157

* Correlaciones significativas (P<0.05)

** Correlaciones significativas (P<0.01)

^a Correlación de Pearson

^b Correlación de Kendall

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Tabla 4.10. Coeficientes de correlación entre las variables climáticas y las variables morfológicas y anatómicas de *Opuntia rastrera*

Variables morfológicas y anatómicas	Precipitación pluvial (mm)	Altitud (m snm)	Temperatura Media anual (°C)
Largo del cladodio ^a	-0.145	-0.006	-0.182
Ancho del cladodio ^a	-0.068	0.124	-0.140
Grosor del cladodio ^a	-0.649**	-0.570**	-0.576**
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio ^a	-0.109	-0.049	-0.117
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio ^a	-0.216	-0.064	-0.246
Distancia entre aréolas ^a	0.172	0.296*	0.090
Distancia entre líneas de aréolas ^a	0.083	0.249	-0.003
Tamaño del gloquidio ^a	0.480*	0.508*	0.388*
Grosor de cutícula ^a	-0.277*	-0.060	-0.324*
Grosor de epidermis ^a	-0.300*	-0.151	-0.314*
Grosor del colénquima ^a	0.008	-0.190	0.092
Grosor del parénquima ^a	0.140	-0.081	0.212
Densidad de estomática ^a	-0.229	-0.231	-0.191
Largo de estomas ^a	0.260*	-0.075	0.361**
Ancho de estomas ^a	0.529**	0.233	0.568**
Área estomática ^a	0.444**	0.118	0.511**

* Correlaciones significativas (P<0.05)

** Correlaciones significativas (P<0.01)

^a Correlación de Pearson

^b Correlación de Kendall

Tabla 4.11. Coeficientes de correlación entre las variables climáticas y las variables morfológicas y anatómicas de *Opuntia robusta*

VARIABLES MORFOLÓGICAS Y ANATÓMICAS	Precipitación pluvial (mm)	Altitud (m snm)	Temperatura Media anual (°C)
Altura del tallo ^a	-0.123	0.431 **	-0.364 **
Largo del cladodio ^a	0.183	-0.189	0.216
Ancho del cladodio ^a	0.006	0.012	-0.008
Grosor del cladodio ^a	-0.517 **	0.287 **	-0.452 **
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio ^a	0.100	-0.266 *	0.22 *
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio ^a	0.047	-0.174	0.14
Distancia entre aréolas ^a	-0.329 **	0.012	-0.2
Distancia entre líneas de aréolas ^a	-0.249 *	-0.04	-0.131
Grosor de cutícula ^a	0.018	0.29 **	-0.184
Grosor de epidermis ^a	0.152	-0.184	0.202
Grosor del colénquima ^a	-0.027	-0.006	0.014
Grosor del parénquima ^a	0.49 **	-0.089	0.317 **
Profundidad de la cripta estomática ^a	-0.46 **	0.107	-0.27 *
Densidad de estomática ^a	0.458 **	-0.009	0.254 *
Largo de estomas ^a	0.139	-0.236 *	0.199
Ancho de estomas ^a	-0.187	-0.217	0.054
Área estomática ^a	-0.194	-0.241 *	0.057

* Correlaciones significativas (P<0.05)

** Correlaciones significativas (P<0.01)

^a Correlación de Pearson

^b Correlación de Kendall

Tabla 4.12. Coeficientes de correlación entre las variables climáticas y las variables morfológicas y anatómicas de *Opuntia streptacantha*

Variables morfológicas y anatómicas	Precipitación pluvial (mm)	Altitud (m snm)	Temperatura Media anual (°C)
Altura del tallo ^a	0.083	0.432 **	-0.258 *
Largo del cladodio ^a	-0.128	-0.146	0.028
Ancho del cladodio ^a	-0.121	0.053	-0.112
Grosor del cladodio ^a	-0.463 **	0.303 **	-0.447 **
Distancia máxima de la parte apical a la más ancha del cladodio ^a	0.057	-0.193	0.152
Distancia máxima de la parte basal a la más ancha del cladodio ^a	-0.054	-0.165	0.080
Distancia entre aréolas ^a	0.189	-0.263 *	0.257 *
Distancia entre líneas de aréolas ^a	0.373 **	-0.510 **	0.510 **
Número total de espinas por aréola ^b	-0.027	0.208 *	-0.291 **
Grosor de cutícula ^a	-0.190	-0.323 **	0.110
Grosor de epidermis ^a	-0.319 **	-0.305 **	0.038
Grosor del colénquima ^a	0.538 **	-0.018	0.289 **
Grosor del parénquima ^a	-0.112	-0.222 *	0.075
Profundidad de la cripta estomática ^a	-0.055	0.148	-0.116
Densidad de estomática ^a	-0.325 **	-0.290 **	0.001
Largo de estomas ^a	0.302 **	-0.358 **	0.405 **
Ancho de estomas ^a	0.195	-0.530 **	0.467 **
Área estomática ^a	0.278 **	-0.524 **	0.505 **

* Correlaciones significativas (P<0.05)

** Correlaciones significativas (P<0.01)

^a Correlación de Pearson

^b Correlación de Kendall

CAPÍTULO 5.

**EVIDENCIAS DE AISLAMIENTO REPRODUCTIVO DURANTE FASE
PROGÁMICA EN POBLACIONES AISLADAS DE *Opuntia streptacantha*
(CACTACEAE)**

En preparación: The Southwestern Naturalist

5. EVIDENCIAS DE AISLAMIENTO REPRODUCTIVO DURANTE FASE PROGÁMICA EN POBLACIONES AISLADAS DE *Opuntia streptacantha* (CACTACEAE)

5.1. RESUMEN

Para evaluar el aislamiento reproductivo en *Opuntia streptacantha*, se comparó la compatibilidad sexual y los números cromosómicos de dos poblaciones aisladas que se ubican en la porción sur del Desierto de Chihuahuense. Se hicieron experimentos con cuatro tratamientos de polinización: 1) tratamiento polinización cruzada entre poblaciones en El Rayo (CPRA), plantas de la población El Rayo fueron polinizadas con polen de Laguna de Guadalupe, 2) tratamiento polinización cruzada entre poblaciones en Laguna de Guadalupe (CPLG), se llevaron a cabo polinizaciones recíprocas; 3) tratamiento polinización cruzada dentro de la población de El Rayo (SPRA), se polinizaron flores en El Rayo con polen colectado en la misma población, 4) tratamiento testigo, consistió en la polinización abierta de flores del El Rayo. Las polinizaciones entre las poblaciones revelaron aislamiento reproductivo, lo que se observa en la baja frecuencia de tubos polínicos que alcanzan la base del estilo (94 y 15), en comparación con los tratamientos SPRA (196) y testigo (209). Asimismo, los porcentajes de producción de semillas fueron más altos en los tratamientos testigo y SPRA (53 y el 58%, respectivamente), que en tratamientos de CPRA y CPLG (32 y el 21%, respectivamente). Los números cromosómicos fueron idénticos en las dos poblaciones y, por lo tanto no, fueron relacionados con las diferencias observadas en compatibilidad sexual. De tal forma, nuestros resultados proporcionan evidencias de que existe incompatibilidad sexual entre poblaciones aisladas de *O. streptacantha*.

5.2. ABSTRACT

Sexual compatibility and chromosome numbers were compared between two isolated populations of *Opuntia streptacantha* growing in the Chihuahuan Desert to evaluate reproductive isolation. Four pollination treatments were tested: 1) El Rayo cross-pollination between populations (CPRA), in which flowers from the El Rayo were cross-pollinated with pollen grains from Laguna de Guadalupe; 2) Laguna de Guadalupe cross-pollination between populations (CPLG), tested by reciprocal cross pollinations; 3) El Rayo cross-pollination within a population (SPRA), in which flowers from El Rayo population were pollinated by hand with pollen collected from the same population; 4) Control, which consisted of free pollination of flowers from El Rayo. Both cross-pollinations between populations revealed certain degree of reproductive isolation, such as low frequency of pollen tubes that reach the base of the style per flower (94 and 15), in comparison with SPRA (196) and control (209) treatments. Likewise, the percentages of seed set were higher in control and SPRA treatments (53 and 58%, respectively), than in CPRA and CPLG treatments (32 and 21%, respectively). Chromosome numbers were identical in the two populations, and therefore were not related to the observed differences in sexual compatibility. Our results provides evidences for sexual incompatibility in spatially isolated populations of *O. streptacantha*.

5.3. INTRODUCCIÓN

Los efectos de la distancia en el éxito reproductivo entre cruza de poblaciones fragmentadas o entre poblaciones ha sido estudiada a través del valor adaptativo de la progenie en variables reproductivas tales como producción de frutos y semillas (Sobrevila, 1988; Hauser y Siegismund, 2000; Stacy, 2001) y en marcadores bioquímicos y moleculares (Schierup y Christiansen, 1996; Montalvo y Ellstrad, 2001): Sin embargo, no se ha obtenido suficiente información si este efecto es pre o post-cigótico (Waser y Price, 1991).

Solo en *Phlox drummondii*, *Erythronium grandiflorum* y *Delphinium nelsonii* se ha demostrado la existencia de aislamiento pre-cigótico entre cruza de poblaciones aisladas, y ésta se expresa en la inhibición del desarrollo del gameto masculino en el estigma, o en el tejido del estilo, restringiendo el flujo genético de germoplasma extraño a este fenómeno se le conoce como incompatibilidad intraespecífica (De Nettancourt, 1977; Levin, 1989; Cruzan, 1990; Waser y Price, 1991; 1993).

En contraste, los efectos post-cigóticos de cruza entre poblaciones aisladas corresponden a la depresión por exogamia, esta se caracteriza porque la progenie de estas cruza muestra baja adecuación, y esta a sido demostrada en las tasas de germinación, crecimiento de las plántulas, sobrevivencia de las plantas después de un periodo de tiempo o después de ser sometidas a un tipo de estrés (Waser, 1987). La declinación de la adecuación puede ocurrir por las diferencias que pueden existir entre genotipos en particular con ciertas combinaciones de alelos que pueden estar coadaptados (Waser y Price, 1989; Stacy, 2001).

Otro fenómeno relacionado con la disminución del éxito reproductivo es la diferencia de nivel de ploidía entre los progenitores, aunque puede haber flujo genético entre estos como ocurre en los grupos de *Solanum*, *Viola* y *Papaver* (Levin, 1979). El flujo genético se restringe por lo cual se genera una barrera de aislamiento reproductivo que puede ser parcial (Briggs y Walters, 1997).

En el género *Opuntia* se ha reconocido que en algunas especies existen poblaciones con diferentes niveles de ploidía, en *Opuntia streptacantha* se han observado individuos diploides ($2n=2x=22$) (Yuasa *et al.*, 1973) y también se han observado individuos octoploides $2n=8x=88$ (Yuasa *et al.*, 1973; Pinkava y Parfitt 1982; Muñoz *et al.*, 1995; Palomino y Heras, 2001).

La porción sur del Desierto Chihuahuense se caracterizó desde épocas prehispánicas por sus nopaleras que incluyen entre otras especies a *O. streptacantha* ya que formaban masas continuas de bosques en la región semiárida de la porción sur del Desierto Chihuahuense (Rzedowski, 1978). Sin embargo, en la época colonial los inmigrantes españoles colonizaron estas regiones y posteriormente se incrementó el desarrollo agrícola de la región dando como resultado la fragmentación de las nopaleras y confinando a las poblaciones silvestres de *Opuntia* a ambientes poco favorables para las actividades agrícolas, como los afloramientos rocosos (Serna-Pérez, 1984; Janzen, 1986). El desarrollo de islas terrestres en ambientes rocosos da como resultado la fragmentación de las poblaciones (Young y Clarke, 2000), promoviendo algún grado

de aislamiento entre las poblaciones silvestres (Jacquemyn *et al.*, 2002). Algunas veces este tipo de aislamiento puede producir diferencias genéticas y cromosómicas a través de selección natural o deriva génica (Futuyma, 1997; Martínez *et al.*, 2000).

Este trabajo consistió en hacer cruza entre poblaciones para evaluar la tasa de fructificación y producción de semillas de dos poblaciones aisladas de *Opuntia streptacantha*. Además, se determinó su número cromosómico con el fin de probar la hipótesis de que si las poblaciones tienen diferentes niveles de ploidía, esto podría causar tasas bajas de producción de semillas y de fructificación. Sin embargo, si no se encuentran diferencias en el número cromosómico y se producen pocos frutos y semillas por la disminución de los tubos polínicos en la base del estilo, se deberá al aislamiento precigótico conocido como incompatibilidad interespecífica que es común en poblaciones aisladas en las que se ha restringido el flujo genético.

5.4. MATERIALES Y METODOS

5.4.1. Descripción del material vegetativo.

Opuntia streptacantha Lem. es un cacto autocompatible perenne, arborescente de 0.5-2.5 m de altura, tronco bien definido, cladodios verdes y obovados. Se distribuye ampliamente en las regiones semiáridas del centro de México (Bravo, 1978; Pimienta-Barrios, 1993). En la zona de estudio es la especie dominante, crece aislada o en asociación con otras especies.

5.4.2. Descripción del área de estudio.

El estudio se llevó a cabo en dos localidades localizadas en los Llanos de Ojuelos (INEGI, 1981), en la porción sudoeste del Desierto Chihuahuense. Uno de los sitios de estudio (El Rayo) se localiza cerca de El Rayo, Zacatecas, (21° 58' N, 101° 35' O, 2190 m); el segundo sitio del estudio (Laguna de Guadalupe) se localiza cerca de Laguna de Guadalupe (21° 49' N, 101° 22' O, 2180 m). Ambas poblaciones se encuentran separadas por 32 km de campos agrícolas (Fig. 5.1). Las condiciones climáticas de los sitios del estudio son comparables, con 450-500 mm de lluvia anual y temperaturas promedio que varían de 16 a 18°C (Pimienta-Barrios, 1990).

La vegetación del área de estudio es matorral crasicaule y está compuesto principalmente por plantas suculentas como opuntias, biznagas, agaves y yucas, entre los elementos más conspicuos (Rzedowski, 1978). El estrato superior que es de 2 a 5 m de alto dominan las especies *Opuntia*

streptacantha, *Yucca descipiens*, mientras que en el estrato arbustivo que es de 1 a 2 m dominan *O. robusta* y *O. leucotricha*, mezcladas con *O. imbricata*, *O. joconostle*, y como estrato subarbustivo que es menor de 1 m se encuentra *O. rastrera*, *Agave schidigera*, *Asclepias linaria*, *Dalea bicolor*, y el estrato herbáceo esta constituido por *Bouteloa gracilis*, *B. scorpioides*, *Aristida divaricata* y *Stipa eminens*. Además, en este estrato también encontramos algunas cactáceas como *Ferocactus histrix*, *Coryphanta cornifera* y *Echinocactus platyacanthus* (Pimienta-Barrios, 1990). Esta comunidad se desarrolla preferentemente en suelos someros de laderas de cerros de naturaleza volcánica, aunque también desciende a suelos aluviales (Rzedowsky, 1978) y se encuentra fragmentada por extensas áreas de cultivo.

5.4.3. Tratamientos de polinización.

Para evitar la auto-polinización, los botones florales fueron emasculados, los estigmas fueron polinizados manualmente con polen fresco e inmediatamente después fueron cubiertos con bolsas de papel glassine (Rosas y Pimienta, 1986). Se evaluaron cuatro tratamientos de polinización: 1) polinización cruzada entre poblaciones de El Rayo (CPRA); en el que 60 flores de *O. streptacantha* que crecen en El Rayo fueron polinizadas manualmente con polen colectado de plantas de *O. streptacantha* de Laguna de Guadalupe; 2) polinización cruzada entre poblaciones en Laguna de Guadalupe (CPLG), en el que se efectuó polinización recíproca de 60 flores entre las poblaciones de El Rayo y Laguna de Guadalupe; 3) polinización cruzada dentro de población (SPRA), en el que 60 flores de la población de El Rayo fueron polinizadas manualmente con polen colectado de la misma población, teniendo cuidado de que la distancia de la planta donadora de polen estuviera alejada por lo menos 10 m de la planta receptora de polen. No se llevó a cabo la polinización recíproca dentro de poblaciones en Laguna de Guadalupe porque no coincidieron los periodos de floración puesto que en esta localidad la mayoría de los botones florales eran muy jóvenes para llevar a cabo este tratamiento y; 4) tratamiento testigo, en el que 60 flores de *O. streptacantha* de El Rayo se usaron como un tratamiento de la polinización abierta.



Figura 5.1. Localización geográfica de las poblaciones silvestres de *Opuntia streptacantha* de El Rayo, y Laguna de Guadalupe estudiadas.

De las 60 flores polinizadas de cada tratamiento 15 fueron usadas para evaluar la acumulación de granos de polen en el estigma 24 h después de polinización, 15 flores fueron usadas para evaluar el crecimiento del tubo polínico en el estilo 72 h después de polinización, 15 flores fueron usadas para observar los tubos polínicos que arriban a los óvulos 72 h después de polinización y las últimas 15 flores se dejaron hasta maduración para evaluar la tasa de fructificación y de formación de semillas.

Los pistilos y ovarios de las 45 flores que se utilizaron para evaluar la acumulación de polen en el estigma, el crecimiento de tubos polínicos por el estilo y los tubos polínicos que se aproximan a los óvulos fueron fijadas en FAA (formol: ácido acético: etanol: agua, 10: 5: 50: 35) (v: v: v: v) (Jensen, 1962). Para observar los tubos polínicos en el estilo, estos fueron disectados de los pistilos y se colocaron en NaHCO_3 (1%) por 1 h; después fueron lavados con agua destilada, y finalmente ablandados en una autoclave por 20 min colocando los estilos en Na_2SO_3 (1%). Los estilos ablandados se remojaron con acetona (100%) por 30 min, para después ser aplastados y teñidos con azul lacmoide (Rosas y Pimienta, 1986). Los tubos polínicos fueron identificados en el estilo por los tapones de calosa que adquieren un color azul claro en respuesta

a la tinción de azul lacmoide. Estas observaciones fueron realizadas usando un microscopio óptico de campo claro.

Los óvulos fueron colectados de los ovarios 72 h después de la polinización, y se agregó NaHCO_3 (1%) por 1 h. Después, los óvulos fueron lavados con agua destilada y fueron montados en portaobjetos con azul de anilina (0.005%) en buffer de fosfato 0,15 M (pH 9.1). Se observaron los óvulos bajo luz UV usando un microscopio de fluorescencia (Zeiss) provisto de epi-iluminación, para observar la penetración del óvulo por los tubos polínicos (Polito y Pimienta, 1982).

La tasa de producción de frutos y semillas se determinó con los 15 frutos restantes éstos se colectaron antes de maduración (80 días después de polinización) para evitar pérdidas de frutos por depredación o por la cosecha por parte de los habitantes de poblaciones rurales, que normalmente cosechan fruto en las poblaciones silvestres de *O. streptacantha*. La tasa de producción de semillas se obtuvo calculando el porcentaje de semillas que llegan a la madurez con base al número de óvulos por flor; y la tasa de fructificación se calculó como el porcentaje de frutos que no sufrieron abscisión después de 80 días después de la polinización con base a los 15 frutos por tratamiento de polinización.

Para homogeneizar las varianzas antes de llevar a cabo el ANOVA, los valores de los granos de polen en el estigma y tubos polínicos en el estilo, fueron transformados calculando su logaritmo natural, la tasa de producción de semillas se transformó con la función raíz cuadrada del arco seno. Se usaron ANOVAs de una sola vía para probar diferencias significativas entre tratamientos, posteriormente se llevó a cabo la comparación de los promedios a través de la prueba Student-Newman Keuls ($P < 0.05$) (Zar, 1984). Los análisis se llevaron a cabo con el software estadístico Sigma Stat versión 2.0.

Después de llevar a cabo los tratamientos de polinización se calculó el esfuerzo relativo (δ) para las variables: tasa de producción de frutos y tasa de producción de semillas, usando la fórmula $(W_o - W_s) / W_{\text{máxima}}$. Donde W_o es el esfuerzo de polinización entre poblaciones; W_s es el esfuerzo de cruza dentro de las poblaciones y si $W_{\text{máxima}} = W_o$ cuando el esfuerzo de las cruza entre poblaciones es mayor o igual a las de cruza dentro poblaciones y si $W_{\text{máxima}} = W_s$ cuando el esfuerzo de cruza dentro poblaciones es mayor que en las cruza entre poblaciones. Esta estimación varía de -1 a $+1$ (Quilínchi *et al.*, 2001).

5.4.4. Registro de visitas florales.

Se registró el número de visitas de insectos a las flores de los individuos de *O. streptacantha* en El Rayo a lo largo de un transecto de 50 m durante dos días. Este registro de visitas a flores por diferentes especies de insectos se cuantificó desde la antesis hasta el cierre de las flores. Se observó la frecuencia de visitas florales durante el pico máximo de floración durante 5 minutos a intervalos de dos horas desde, las 8:00 a 19:00 h se colectaron y se identificaron visitantes florales en el laboratorio de entomología, Departamento de Botánica y Zoología de la Universidad de Guadalajara.

5.4.5. Recuento de números cromosómicos.

Ápices radicales en crecimiento fueron colocados en 8-hidroxiquinoleína (0.002M) por 2 h. Posteriormente los ápices de raíz fueron hidrolizados con ácido clorhídrico (1N) por 10 min a 60°C y posteriormente se transfirieron al reactivo de Feulgen por 7 min a 60°C. En tres plantas de cada población, se prepararon placas por medio de la técnica de aplastado seleccionando cinco células en metafase (García-Velázquez, 1990).

5.5. RESULTADOS

5.5.1. Efecto de las cruzas dentro y entre poblaciones.

Los granos de polen depositados en el estigma osciló entre 7.67 y 8.17 granos de polen por milímetro cuadrado, por lo cual la cantidad de polen fue estadísticamente similar en todos los tratamientos ($F_{3,59}=0.396$, $P=0.7559$, $\alpha=0.05$). Por lo cual la cantidad de polen depositado en las polinizaciones manuales fueron similares a las depositadas por los insectos. Sin embargo, la evaluación de las frecuencias de los tubos polínicos en la base del estilo 72 h después de polinización, reveló que el número de tubos polínicos formados en los tratamientos de polinización fueron estadísticamente diferentes entre los tratamientos ($F_{3,59}=62.4$, $P<0.0001$, $\alpha=0.05$). Los tratamientos en los que se llevaron a cabo cruzas entre poblaciones (CPRA y CPLG) mostraron menor cantidad de tubos polínicos en la base del estilo (94 y 15 respectivamente), comparado con los tratamientos testigo (209) y SPRA (196) (Tabla 5.1).

Los tubos polínicos fueron observados cuando se aproximaban a los óvulos 72 h después de la polinización. El número de tubos polínicos que alcanzaban a los óvulos varió de 33 a 98, siendo estadísticamente superior en los tratamientos testigo (98) y SPRA (81), que en los tratamientos CPRA (33) y CPLG (34) ($F_{3,59}=7.34$, $P=0.0003$ $\alpha=0.05$) (Tabla 5.1).

El porcentaje de producción de frutos y semillas varió también entre tratamientos. La producción de frutos fue siete veces menor en el tratamiento CPLG; cuatro veces menor que el tratamiento CPRA, y 4.7 veces menor que el tratamiento SPRA, comparado con el tratamiento testigo (Tabla 5.1). El porcentaje de asentamiento de semillas fue estadísticamente similar en los tratamientos testigo y SPRA, pero estos fueron estadísticamente mayores que el asentamiento de semillas en los tratamientos CPRA y CPLG. ($F_{3,32}=3.68$, $P=0.0381$, $\alpha=0.05$) (Tabla 5.1).

Se registró un bajo esfuerzo reproductivo entre las cruzas entre poblaciones debido a que el número de tubos polínicos en la base de estilo que arriban a los óvulos 72 h después de la polinización y, por consiguiente, el asentamiento de frutos y semillas fue demasiado bajo. No obstante, la reducción del esfuerzo reproductivo en cruzas entre poblaciones es mayor cuando plantas de la población de Laguna de Guadalupe fueron utilizadas como el progenitor femenino, lo que indica incompatibilidad unidireccional (Tabla 5.1).

Tabla 5.1 Frecuencia de tubos polínicos en la base del estilo y aproximándose al óvulo 72 h después de polinización, y su relación con la producción de frutos y semillas y su esfuerzo relativo (δ) en tratamiento de polinización en dos poblaciones de *O. streptacantha*.

Tratamiento de Polinización	Granos de polen en el estigma después de la polinización (polen.mm ²)	Número de tubos polínicos en la base del estilo después de 72 h	Número de tubos polínicos arribando a los óvulos después de 72 h	Producción	
				Frutos (%)	semillas (%)
Testigo	8.17±0.43 a	209±20 a	98±9 a	93	53±5 a
SPRA	7.73±0.62 a	196±18 a	81±9 a	60	58±7 a
CPRA	8.15±0.46 a	94±11 b	33±4 b	53	32±4 b
δ		-0.52	-0.59	-0.11	-0.45
CPLG	7.67±0.52 a	15±7 c	34±4 b	13	21±4 b
δ		-0.92	-0.58	-0.78	-0.63

*Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente (Student-Newman Keuls, $\alpha=0.05$; $N=15$ flores por tratamiento).

5.5.2 Comportamiento de los visitantes florales.

En total tres especies de insectos (*Apis mellifera*, Apidae *Diadasia rinconis* Apidae y Andrenidae). Los visitantes florales más frecuentes fueron *Apis mellifera* (68%) y *Diadasia rinconis* (31%) de esta especie se observó que los nidos de estas abejas se encuentran en el suelo adyacentes a las nopaleras estudiadas mientras que *Perdita bicolor* solo realizó el 1.17% de las visitas de un total de 134 visitas.

5.5.3. Recuento de números cromosómicos.

El número cromosómico es 88 para todos los individuos de *O. streptacantha*. Así, estas poblaciones son octoploides ($2n=8x=88$).

5.6. DISCUSIÓN

La autoincompatibilidad sexual es común en algunas especies de *Opuntia* (Pimienta-Barrios y del Castillo, 2002). Nuestras observaciones revelan que la polinización cruzada entre individuos de poblaciones aisladas de *O. streptacantha* revelan esfuerzos reproductivos bajos en polinizaciones cruzadas, como lo indica el bajo número de tubos polínicos que alcanzan la base del estilo, o a los óvulos en la cavidad del ovario, y finalmente en el asentamiento de frutos y semillas. Sin embargo, la reducción del esfuerzo reproductivo es muy marcado cuando se utilizó como progenitor femenino a las plantas de *O. streptacantha* que crecen en Laguna de Guadalupe, indicando la existencia de incompatibilidad unidireccional.

Resultados similares se han observado en *Erythronium grandiflorum*, *Delphinium nelsonii* y *Phlox drummondii*, especies en las que el esfuerzo del polen local funcionó mejor que el polen de plantas distantes (Levin, 1989; Cruzan, 1990; Waser y Price, 1993).

Asentamientos bajos de polen y semillas fueron observados en cruzas de poblaciones silvestres y cultivadas del cacto columnar *Stenocereus stellatus* y aparentemente, estas diferencias son favorecidas por la selección artificial (Casas *et al.*, 1999).

El bajo esfuerzo reproductivo en cruzas entre poblaciones es observado por la reducción de la tasa de producción de frutos y semillas en poblaciones aisladas por distancias entre 100 m y 35 km, y es frecuentemente relacionado con el desarrollo de barreras de aislamiento reproductivo pre-cigótico o post-cigótico, basado en observaciones embriológicas (aislamiento sexual) (Waser y Price, 1991; Carney *et al.*, 1994; Baker y Shore, 1995; Stacy, 2001). De hecho, el esfuerzo

relativo de la exogamia puede variar con la distancia entre sus progenitores, sugiriendo la existencia de una distancia óptima para polinizaciones cruzadas (Waser y Price, 1991).

El comportamiento de los tubos polínicos en el estilo de los tratamientos de polinización cruzada (CPRA y CPRLG) que se caracterizó por una baja frecuencia con que los tubos polínicos alcanzan la base del estilo y a los óvulos, se asemeja a la incompatibilidad interespecífica, que comúnmente contribuyen al aislamiento de poblaciones alopátricas y de especies simpátricas (De Nettancourt, 1977). Estas interacciones polen-pistilo como mecanismo que tiende a disminuir la formación de cigotos que pueden sufrir depresión por exogamia y para dar preferencia a las cruas en que las progenies muestren mayor adecuación (Waser y Price, 1993).

La disminución del tamaño de la población en combinación con el incremento de aislamiento pueden incrementar la autogamia y por ende la pérdida de la variación genética (Ellstrand y Elam, 1993). Este aislamiento puede causar adaptación a la variación ambiental local o coadaptación de genes de diferentes loci por interacciones epistáticas favorables entre genes de diferentes loci (Quilinchini *et al.*, 2001; Montalvo y Ellstrand, 2001). Diversos estudios de especies silvestres han mostrado que las cruas entre poblaciones de la misma especie, pero aisladas geográficamente, resultan en una reducción en la producción de semillas (aislamiento pre-cigótico) y una reducción en la adecuación de la progenie en comparación con cruas dentro de una misma población (aislamiento post-cigótico) (Waser y Price, 1991; Hauser y Siegismund, 2000; Quilinchini *et al.*, 2001; Montalvo y Ellstrand, 2001). Esta reducción en la adecuación es conocida como depresión por exogamia (Waser y Williams, 2001).

Es probable que el comportamiento de los polinizadores sea otro factor importante que limite el flujo genético entre las poblaciones, puesto que el comportamiento del forrajeo de los insectos que visitan las flores de *O. streptacantha*, revelan que *Apis mellifera* puede viajar hasta 13 km para obtener polen y néctar en poblaciones silvestres de *Opuntia* (Roubik, 1992), mientras que *Diadasia rinconis*, el principal polinizador de *Opuntia* (Grant *et al.*, 1979; Grant y Hurd, 1979; Mandujano *et al.*, 1996), usualmente viaja distancias no mayores de 30 m desde sus nidos (García-Sánchez, 1984). Las poblaciones de *O. streptacantha* bajo estudio se encuentran separadas por distancia mayores a 30 km, es probable que pocos o ningún polinizador vuele entre estas poblaciones, una condición que reduce el flujo genético entre las poblaciones de *Opuntia* bajo estudio. De manera similar, ocurre en *Anchusa crispera* donde la actividad de los polinizadores establece el área donde se lleva a cabo el flujo genético (Quilinchini *et al.*, 2001).

Registros previos de los números cromosómicos de *O. streptacantha* revelan la presencia de dos niveles de ploidía, plantas diploides ($2n=2x=22$), y octoploides ($2n=8x=88$) (Pinkava y Parfitt, 1982). Nuestras observaciones coinciden con reportes recientes de los números cromosómicos obtenidos para *O. streptacantha* colectados en otras zonas áridas de México y cerca de la zona de estudio, los cuales reportan la presencia de plantas octoploides (Pimienta-Barrios y Muñoz-Urias, 1995; Palomino y Heras, 2001). Debido a que las dos poblaciones registran número de cromosomas similar ($2n=8x=88$), descartamos especiación simpátrica instantánea por cambios en los números cromosómicos en las poblaciones bajo estudio (Futuyma, 1997). Sin embargo, la poliploidía promueve la evolución de complejos de genes coadaptados en condiciones ambientales muy localizadas. Estos complejos de genes comúnmente producen gran variación entre poblaciones fragmentadas (Dudash y Fenster, 2000).

Concluimos que el aislamiento de poblaciones silvestres de *O. streptacantha* es ocasionado por aislamiento geográfico y biológico, puesto que no hay coincidencia en los periodos de floración, además, existe incompatibilidad sexual, puesto que el crecimiento de tubos polínicos es reducido en cruza entre ambas poblaciones que se traduce en bajas tasas de producción de frutos y semillas, por último puede existir reducción de la transferencia de polen por insectos entre poblaciones fragmentadas bajo estudio, ya que se sabe que los insectos reportados en este trabajo viajan poco durante sus actividades de forrajeo.

5.7. LITERATURA CITADA

- Baker, A. M. y J. S. Shore. 1995.** Pollen competition in *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *American Journal of Botany* 82 (6): 717-725.
- Bravo, H. H. 1978.** *Las cactáceas de México*. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F.
- Carney, S. E., M. B. Cruzan y M. L. Arnold. 1994.** Reproductive interactions between hybridizing irises: analyses of pollen-tube growth and fertilization success. *American Journal of Botany* 81 (9): 1169-1175.
- Casas, A., A. Valiente-Banuet, A. Rojas-Martínez, y P. Dávila. 1999.** Reproductive biology and the process of domestication of the columnar cactus *Stenocereus stellatus* in Central México. *American Journal of Botany* 86 (4): 534-542.
- Cruzan, M. B. 1990.** Pollen –pollen and pollen –style interactions during pollen tube growth in *Erythronium grandiflorum* (Liliaceae). *American Journal of Botany* 77(1): 116-122.
- De Nettancourt, D. 1977.** *Incompatibility in Angiosperms*. Monographs on Theoretical and Applied Genetics 3. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg and New York.
- Dudash, M. y C. B. Fenster. 2000.** Inbreeding and outbreeding depression in fragmented populations. En: A. G. Young and G. M. Clarke [eds.] *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp: 35-53.
- Ellstrad, N. C. y D. R. Elam. 1993.** Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review in Ecology and Systematics* 24: 217-242.
- Futuyma, D. J. 1997.** *Evolutionary biology*. Sinauer, Massachusetts, U. S. A.
- García-Sánchez, R. 1984.** *Patrones de polinización y fenología floral en poblaciones de Opuntia spp. en San Luis Potosí y Zacatecas*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F.
- García-Velázquez, A. 1990.** *Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal*. Colegio de Posgraduados, México.
- Grant, V., K. A. Grant y P. D. Hurd, 1979.** Pollination of *Opuntia lindheimeri* and related species. *Plant Systematic and Evolution* 132: 313-320.

- Grant, V., K. A. y P. D. Hurd, 1979.** Pollination of the southwestern opuntias. *Plant Systematic and Evolution* 133: 15-28.
- Hauser, T. P. y H. R. Siegismund. 2000.** Inbreeding and outbreeding effects on pollen fitness and zygote survival in *Silene nutans* (Caryophyllaceae). *Journal of Evolutionary Biology* 13: 446-454.
- INEGI. 1981.** *Síntesis geográfica de Jalisco*. Secretaría de Programación y Presupuesto, México, México D. F.
- Jacquemyn, H., R. Brys y M. Hermy. 2002.** Patch occupancy, population size and reproductive success of forest herb (*Primula elatior*) in fragmented landscape. *Oecologia* 130: 617-625.
- Janzen, D. H. 1986.** Chihuahuan desert nopaleras: defaunated big mammal vegetation. *Annual Review in Ecology and Systematics* 17: 595-636.
- Jensen, W. A. 1962.** *Botanical Histochemistry*. Fremman and Company, San Francisco, U. S. A.
- Levin, D. A. 1978.** The origin of isolating mechanisms in flowering plants. *Evolutionary Biology* II, 185-317.
- Levin, D. A. 1989.** Proximity-dependent cross-compatibility in *Phlox*. *Evolution* 43: 1114-1116.
- Mandujano, M. M., C. Montaña y L. E. Eguiarte. 1996.** Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan Desert: Why are sexually derived recruitments so rare?. *American Journal of Botany* 83 (1): 63-70.
- Martínez, J., I. Méndez, y G. Palomino. 2000.** Cytological and genical differentiation between cytotypes of *Echeandia nana* (Anthericaceae). *Caryologia* 53 (2): 147-158.
- Montalvo, A. M., y N. C. Ellstrad. 2001.** Nonclonal transplantation and outbreeding depression in the subshrub *Lotus scoparius* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 88 (2): 258-269.
- Muñoz, U. A., García V. y E. Pimienta. 1995.** Relación entre el nivel de ploidía y variables anatómicas y morfológicas en especies silvestres y cultivadas de nopal tunero (*Opuntia* spp.). En: Pimienta-Barrios E., C. Neri-Luna, A. Muñoz-Urias y F.M. Huerta-Martínez (comp.). *Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal 6to Congreso Nacional y 4to Internacional*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México pp: 7-11.
- Palomino, G. y H. M. Heras. 2001.** Karyotypic studies in *Opuntia cochinera*, *O. hyptiacantha*, and *O. streptacantha* (Cactaceae). *Caryologia* 54 (2): 147-154.
- Pimienta-Barrios, E. 1990.** *El Nopal Tunero*. Serie Libros Tiempos de Ciencia, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.

- Pimienta, B. E. 1993.** Vegetable cactus (*Opuntia*). En: H. Williams (ed.). *Underutilized crops: pulses and vegetables*. Chapman and Hall, London. pp: 177-191.
- Pimienta-Barrios, E., y A. Muñoz-Urias. 1995.** Domestications of opuntias and cultivated varieties. En: G. Barbera, P. Inglese, E. Pimienta-Barrios (eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO publications, Rome. pp: 58-61.
- Pimienta-Barrios, E., M. E. González Del Castillo-Aranda, y P. S. Nobel. 2002.** Ecophysiology of a wild platyopuntia exposed to prolonged drought. *Environmental and Experimental Botany* 47 (1): 77-86.
- Pimienta-Barrios y R. F. del Castillo. 2002.** Reproductive biology. En: P. S. Nobel (ed.). *Cacti Biology and uses*. University of California Press. U. S. A. pp: 75-90.
- Pinkava, D. J., y B. D. Parfitt. 1982.** Chromosome numbers in some cacti of western America IV. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 109 (2): 121-128.
- Polito, S. V., y E. Pimienta. 1982.** A rapid and accurate fluorescence method using ovule whole mounts to assess fertilizations plants. *Mikroskopie* 39: 32-34.
- Quilínchi, A., M. Debussche y J. D. Thompson. 2001.** Evidence for local outbreeding depression in the Mediterranean island endemic *Anchusa crispa* Viv. (Boraginaceae) *Heredity* 87:190-197.
- Rosas, C. P., y B. E. Pimienta. 1986.** Polinización y fase progámica en nopal (*Opuntia ficus-indica* [L] Miller) tunero. *Fitotecnia* 8:164-176.
- Roubik, W. D. 1992.** *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. Cambridge Tropical Biology Series, Cambridge University press, Cambridge, UK.
- Rzedowski, J. 1978.** *Vegetación de México*. LIMUSA, México, D. F.
- Schierup, M. H. y F. B. Christiansen. 1996.** Inbreeding depression and outbreeding depression in plants. *Heredity* 77: 461-468.
- Serna-Pérez, M. A. 1984.** Del mayorazgo colonial a la hacienda porfiriana: el caso de Santa Elena de Ojuelos, Jalisco. *Relaciones Estudios de Historia y Sociedad. El Colegio de Michoacán* V:29-60.
- Sobrevila, C. 1988.** Effects of distance between pollen donor and pollen recipient on fitness components in *Espeletia schultzii*. *American Journal of Botany* 75 (5):701-724.

- Stacy, E. A. 2001.** Cross-fertility in two tropical tree species: evidence of inbreeding depression within populations and genetic divergence among populations. *American Journal of Botany* 88 (6): 1041-1051.
- Waser, N. M. 1987.** Spatial genetics heterogeneity in a population of the montane perennial plant, *Delphinium nelsoni*. *Heredity* 58:249-256.
- Waser, N. M., y M. V. Price. 1991.** Outcrossing distance effects in *Delphinium nelsonii*: pollen loads, pollen tubes and seed set. *Ecology* 72 (1): 171-179.
- Waser, N. M., y M. V. Price. 1993.** Optimal outcrossing in *Ipomopsis aggregata*: seed set and offspring fitness. *Evolution* 43(5):1097-1109.
- Waser, N. M., y M. V. Price. 1993.** Crossing distance effects on prezygotic performance in plants: an argument for female choice. *Oikos* 68: 303-308.
- Waser, N. M. y C. F. Williams. 2001.** Inbreeding and outbreeding. En: C. W. Fox, D. A. Roff and D. J. Fairbairn (eds.). *Evolutionary ecology concepts and case studies*. Oxford University Press, New York, U. S. A. pp: 84-98.
- Yuasa, H., H. Shimizu, S. Kashiwai y N. Kondo. 1973.** Chromosome numbers and their bearing on the geographic distribution in the subfamily Opuntioideae (Cactaceae). *Report of the Institute for Breeding Research, Tokyo University of Agriculture* 4:1-10 (English summary).
- Young, A. G., y G. M. Clarke. 2000.** Animal case studies. En: A. G. Young and G. M. Clarke editors. *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp: 127-128.
- Zar, J. H. 1984.** *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, New Jersey, U. S. A.

CAPITULO 6.

**ECOFISIOLOGIA DE *Opuntia robusta* EN UN AMBIENTE ROCOSO
EN EL RAYO, ZACATECAS, MÉXICO.**

Publicado en: *Annals of Botany* 92:239-245, 2003.

Effects of Benomyl and Drought on the Mycorrhizal Development and Daily Net CO₂ Uptake of a Wild *Platyopuntia* in a Rocky Semi-arid Environment

EULOGIO PIMIENTA-BARRIOS^{1,*}, MARIA EUGENIA GONZALEZ DEL CASTILLO-ARANDA¹,
ALEJANDRO MUÑOZ-URIAS¹ and PARK S. NOBEL²

¹*Departamento de Ecología, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, 45110 Zapopan, Jalisco, México* and ²*Department of Organismic Biology, Ecology, and Evolution, University of California, Los Angeles, CA 90095-1606, USA*

Received: 18 December 2002 Returned for revision: 28 April 2003 Accepted: 1 May 2003 Published electronically: 18 June 2003

The effects of drought and the fungicide benomyl on a wild platyopuntia, *Opuntia robusta* Wendl., growing in a rocky semi-arid environment were assessed. Cladode phosphorus content, cladode water potential and daily net CO₂ uptake were measured monthly in 2000 and 2001 before, during and after the summer rainy period. During 2000, the formation of new roots and new cladodes was severely suppressed in response to a prolonged drought, impairing the development of the symbiotic relationship between the arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and the roots. Hence no effect of benomyl application was observed on daily carbon assimilation by this Crassulacean acid metabolism plant. During 2001, drought was interrupted, and new cladodes and roots were formed in response to rainfall. Benomyl was highly effective in suppressing root colonization by AM-fungi; however, daily C assimilation was reduced by benomyl application only in October. Thus, the inhibition of AM-fungal colonization by benomyl did not affect photosynthesis, water uptake and P uptake under prolonged drought.

© 2003 Annals of Botany Company

Key words: Arbuscular mycorrhizae, benomyl, CO₂ uptake, drought, *Opuntia robusta* Wendl., phosphorus, rocky environment.

INTRODUCTION

Inselbergs or rocky environments are isolated rises above a plain, consisting of hard bedrock (Bremer and Sander, 2000). Despite their widespread presence in temperate and tropical regions, inselbergs have been largely ignored as subjects of ecosystem research (Barthlott and Porembski, 2000). Rocky environments are common in the semi-arid environments of central Mexico and are usually medium-sized islands in which vegetation patches are formed by groups of plants growing in crevices or depressions that trap wind-blown organic debris, minerals and water, thereby creating patches of different size that give rise to 'islands of fertility' (Pimienta-Barrios *et al.*, 2002a). A reduced number of species grow in these places, including Crassulacean acid metabolism (CAM) plants, such as members of genera *Agave* and *Opuntia*, and some C₃ plants, such as species of the genus *Yucca* (Pimienta-Barrios *et al.*, 2002a).

Inselbergs are highly stressful environments because of the extremely low availability of water and mineral nutrients in time and space (Lüttge, 1997; Kluge and Brulfert, 2000; Porembski *et al.*, 2000; Szarzynsky, 2000), conditions that are considered favourable for mycorrhizal activity (Smith and Read, 1997; Orcutt and Nilsen, 2000). Nevertheless, data on mycorrhizal function and interactions in an ecophysiological context are lacking for plants

growing in inselbergs, especially for CAM plants (Lüttge, 1997; Kluge and Brulfert, 2000). Furthermore, CAM plants have been less studied with regard to the effects of mycorrhizal symbiosis on photosynthesis (Cui and Nobel, 1992) compared with C₃ plants (Davies *et al.*, 1993; Syvertsen and Graham, 1999; Estrada-Luna *et al.*, 2000).

The use of the fungicide benomyl, a benzimidazole, to chemically exclude arbuscular-mycorrhizal (AM) fungi in natural and cultivated vegetation is valuable for studying the role of mycorrhizal symbiosis in plant functioning in the field (Carey *et al.*, 1992; Merryweather and Fitter, 1996; Graham and Eissenstat, 1998; Wilson *et al.*, 2001). Benomyl has selective activity against AM-fungi and rarely has a phytotoxic effect (Paul *et al.*, 1989; Pedersen and Sylvia, 1997; Kahiluoto *et al.*, 2000). In the present study, ecophysiological responses were examined for two growing seasons in a wild population of the CAM species *Opuntia robusta* Wendl. in a rocky environment exposed to benomyl applications at the end of a prolonged drought. It was hypothesized that the survival and development of *O. robusta* in a rocky semi-arid environment would be physiologically dependent on the establishment of mycorrhizal symbiosis by AM-fungi. Therefore, if the development of mycorrhizal symbiosis for *O. robusta* is restrained by benomyl, basic physiological processes such as photosynthesis will be affected compared with those in plants for which the symbiosis develops naturally, because the uptake of critical elements for photosynthesis, such as phosphorus and water, will be reduced.

* For correspondence at: Cerrada de la Maestranza 1098, Residencial Guadalupe Jardín, 45030 Zapopan, Jalisco, México. Fax +52 (33) 37 77 11 56, e-mail epimient@maiz.cucba.udg.mx

MATERIALS AND METHODS

Site and plant description

Measurements were made from May 2000 to November 2001 in a rocky community near El Rayo, Zacatecas, Mexico (21°58'N, 101°35'W; 2190 m a.s.l.). The site is in the south-western corner of the Chihuahuan Desert on highlands of the semi-arid region of north central Mexico on a plateau known as Altiplano Potosino-Zacatecano (Medellín-Leal, 1982). Annual rainfall averages 500 mm and occurs primarily in the summer; the average annual temperature is 16–18 °C (Pimienta-Barrios, 1994). Rainfall data were obtained from an official weather station maintained by the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias near Ojuelos, Jalisco (21°52'N, 101°37'W; 2100 m a.s.l.).

Opuntia robusta var. *robusta* is a perennial shrubby cactus that is 0.5–1.0 m tall, with a poorly defined trunk made up of thick, orbicular, bluish-green cladodes. It is the dominant perennial species at the study site. It grows isolated or in association with other species, resulting in a patchy distribution of the vegetation interspersed with bare rock outcrops. Vegetation at the study site is of the crassicauleous brushwood type (Rzedowski, 1978). The soil is shallow, brown, and of the haplic planosol type, with a sandy loam texture. Underneath the canopy of *O. robusta*, the soil has a pH of 4.5, 24 µg g⁻¹ extractable P and 1.1 % organic matter content, whereas soil outside the patches has a pH of 5.9, 25 µg g⁻¹ extractable P and 1.2 % organic matter content.

Experimental design

The experiment consisted of two treatments, a control without the fungicide benomyl (–B), and a treatment with benomyl (+B), replicated five times. Ten mature plants of *O. robusta* were selected at the study site, their rhizosphere area was estimated, and the plants were then randomly assigned to a treatment. Benomyl (DuPont Benlate, Willmington, DE, USA; 50 % active ingredients) was applied to the rhizosphere area of the selected plants as an aqueous suspension of 4 g l⁻¹ at a rate of 5 l m⁻² to give a final benomyl dosage of 20 g m⁻². The applications were made twice each month throughout the rainy seasons (May to September) of 2000 and 2001. The five control plants were irrigated with the same amount of water. The relatively high benomyl dosage was based on preliminary measurements with a lower benomyl concentration (1.4 g l⁻¹) that did not exert significant effects on physiological traits of treated plants; a similar high dosage of benomyl has been used to suppress AM-fungi in *Citrus* roots (Graham and Eissenstat, 1998).

Gas exchange measurements

Net CO₂ uptake was measured every 2 h over 24-h periods on 19–20 May, 28–29 Jun., 2–3 Aug., 5–6 Sep., 5–6 Oct. and 1–2 Nov. 2000, and on 22–23 Jun., 19–20 Jul., 24–25 Aug., 20–21 Sep., 18–19 Oct. and 29–30 Nov. 2001. Measurements were made on five plants per treatment using

a portable photosynthesis system (LI-6200; Li-Cor, Lincoln, NE, USA). A 0.25 l leaf chamber was modified by replacing the distal half-cylinder with a narrowed opening (2 cm × 4 cm) lined with a closed-pore foam gasket that was firmly pressed against an approximately south-west-facing surface of a cladode. Total daily values of net CO₂ uptake were obtained by integrating the instantaneous rates over 24 h.

On the dates of gas exchange measurements and on 18–19 May 2000, the photosynthetic photon flux density (PPFD, wavelengths of 400–700 nm) on a horizontal plane was recorded hourly from sunrise to sunset using a Li-Cor LI-250 quantum sensor, and then integrated to obtain the total daily PPFD. Air temperature was recorded every hour using a mercury thermometer. Air relative humidity was recorded hourly using a digital humidity gauge.

Soil and plant analysis

During 2000 and 2001, soil water potential (Ψ_{soil}) was determined using a WP4 dew point potentiometer (Decagon Devices, Pullman, WA, USA) for one sample removed from the root zone of each of the plants under study (at a depth of 10 cm) on the same days as gas exchange was measured. Also during 2001, cladode water potential (Ψ_{stem}) was determined using the WP4 potentiometer for five stem samples 2.0 cm in diameter. Similar stem samples oven-dried at 80 °C were ground to a powder; 0.5 g was digested overnight in 4 ml nitric acid before 2 ml perchloric acid was added and, after 1 h, the mixture was heated to 170 °C. Stem phosphorus (P) content was assayed colorimetrically using a vanadate–molybdate method (Wolf *et al.*, 1991).

Mycorrhizal colonization

Fine rain-induced roots were collected from each plant from July to September 2000 and from July to October 2001, fixed in FAA (formalin : acetic acid : ethanol : water, 10 : 5 : 50 : 35 by volume), and cut into 1.5-cm segments. The segments were washed, cleared in 10 % (w/w) KOH, and stained with trypan blue (Phillips and Hayman, 1970). Stained segments were mounted on slides, and the percentages of root length containing hyphae, arbuscules and vesicles were assessed under a Zeiss Sinoptic microscope (Oberkochen, Germany) using the magnified intersection method (McGonigle *et al.*, 1990).

Statistical analysis

Significances of differences between treatments for monthly daily net CO₂ uptake, the average over the measurement period, colonization of roots by AM-fungi, cladode P content, and cladode water potential were determined using a *t*-test; when data did not follow a normal distribution, the non-parametric Mann–Whitney procedure was used. Percentage colonization was arcsine-transformed before statistical analysis to achieve normality (Zar, 1999).

RESULTS

The region experienced a prolonged 6-year drought beginning in 1994 and ending in 2001. Annual rainfall over the period was 317 mm in 1994, 344 mm in 1995, 372 mm in 1996, 279 mm in 1997, 345 mm in 1998, 188 mm in 1999 and 255 mm in 2000, with 470 mm being the historical annual average (1964–1984). Rainfall increased to 512 mm in 2001, interrupting the drought. During 2000, 29 % of the annual precipitation occurred in May and 61 % occurred between June and September, whereas in 2001, May received 17 % of the annual precipitation and 71 % occurred from June to September. There was only 11 mm of rainfall in June 2000, making it the driest month of the rainy season, whereas June 2001 was the wettest month, with 160 mm of rainfall (Fig. 1).

Total daily PPFD in 2000 ranged from $38 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ in October and November to $65 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ in June, and in 2001 from $33 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ in August to $51 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ in October (Table 1). The reduction due to cloudiness during the summer of 2001 was not observed in the drier, clearer summer of 2000 (Table 1). Mean day/night air temperatures showed less variation during 2000 compared with 2001. Average relative humidity was lower during the summer of 2000 than the summer of 2001. During 2000, the soil water potential rose from -35 MPa in May to -1.9 MPa in June, then decreased, and reached its maximum in October after a heavy rainfall (Table 1). During 2001, the soil water potential was highest in June and September, when measurement dates coincided with rainfall events (Table 1).

Mycorrhizal colonization

In 2000, few fine roots were formed, so the effect of benomyl on colonization by AM-fungi could not be statistically evaluated. During 2001, the amount of fine roots increased dramatically in comparison with 2000. All the fungal structures (hyphae, arbuscules and vesicles) were present throughout the rainy season in the $-B$ plants; in contrast, colonization of roots of $+B$ plants by AM-fungi was inhibited by benomyl application in 2001. The percentage of roots colonized by hyphae for the $-B$ plants increased from July and August to September and October 2001 (Fig. 2A). For the $+B$ plants, percentage hyphal colonization was lowest in August. The inhibition of hyphal colonization for $+B$ plants ranged from 53 % of the percentage recorded for $-B$ plants in July to 79 % in September 2001 (Fig. 2A). Arbuscules were absent in roots of $+B$ plants throughout 2001, except in September, when they were reduced by 99 % compared with the control (Fig. 2B). The percentage of vesicles of AM-fungi was similar for both treatments in July and August 2001. In September, vesicle colonization for $+B$ plants was reduced by 97 % compared with the control, and it was absent in October (Fig. 2C).

Gas exchange

Most net CO_2 uptake by *O. robusta* occurred at night in 2000 and 2001, although diurnal fixation in late afternoon

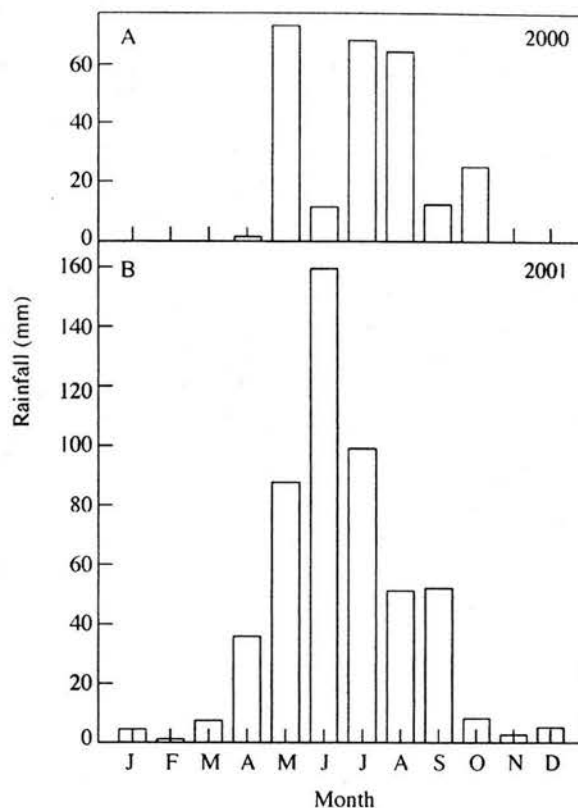


FIG. 1. Monthly precipitation at El Rayo, Zacatecas, Mexico, during 2000 (A) and 2001 (B).

and early morning also contributed to total assimilation. In 2000 and 2001, the total daily assimilation for both $-B$ and $+B$ plants increased from early summer (June) to the middle of the summer (August), decreasing in October and November (Fig. 3A and B). Total daily assimilation was higher from June to August 2000 compared with 2001, but values from late summer (October) to early autumn (November) were higher in 2001 than in 2000. The average net daily CO_2 uptake over the study period was $279 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ for 2000 and $254 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ for 2001 (statistically non-significant). During 2000, total daily net CO_2 uptake was statistically similar for $-B$ and $+B$ plants. However, during 2001, $-B$ plants showed more total daily net CO_2 uptake than $+B$ plants; this difference was statistically significant only in October (Fig. 3).

Stem water potential and stem phosphorous content

Benomyl application had no significant effect on Ψ_{stem} and cladode P content in 2000. In 2001, the lowest Ψ_{stem} for both $-B$ and $+B$ plants occurred in late spring (Table 2); the highest values occurred in July and September. During the entire period of measurement, no significant differences in Ψ_{stem} were observed between $-B$ and $+B$ plants on a particular date. Cladode P content in 2001 was also not affected by benomyl application. P content ranged from $240 \mu\text{g g}^{-1}$ in May for $-B$ to $400 \mu\text{g g}^{-1}$ for both $-B$ and $+B$ in October (Table 2).

Table 1. Total daily photosynthetic photon flux density (PPFD), average day/night air temperatures, average day/night air relative humidities and soil water potential at El Rayo, Zacatecas, Mexico

Month	Total daily PPFD (mol m ⁻² d ⁻¹)		Day/night air temperatures (°C)		Day/night air relative humidities (%)		Soil water potential (MPa)	
	2000	2001	2000	2001	2000	2001	2000	2001
May	48	45	25/19	27/16	36/66	28/76	-35 ± 7	-33 ± 7
June	65	39	21/14	21/13	48/74	53/89	-1.9 ± 0.6	-0.28 ± 0.03
July		39		23/15		42/74		-59 ± 5
August	58	33	21/15	23/17	34/68	46/73	-7.7 ± 2.1	-68 ± 6
September	62	48	22/15	23/15	33/59	48/85	-16.5 ± 3.0	-0.04 ± 0.02
October	38	51	23/14	21/13	45/97	36/67	-0.6 ± 0.1	-69 ± 8
November	38	41	21/15	16/11	36/48	30/36	-19.6 ± 3.5	-84 ± 2

Data for soil water potential are means ± s.e. (n = 10 samples).

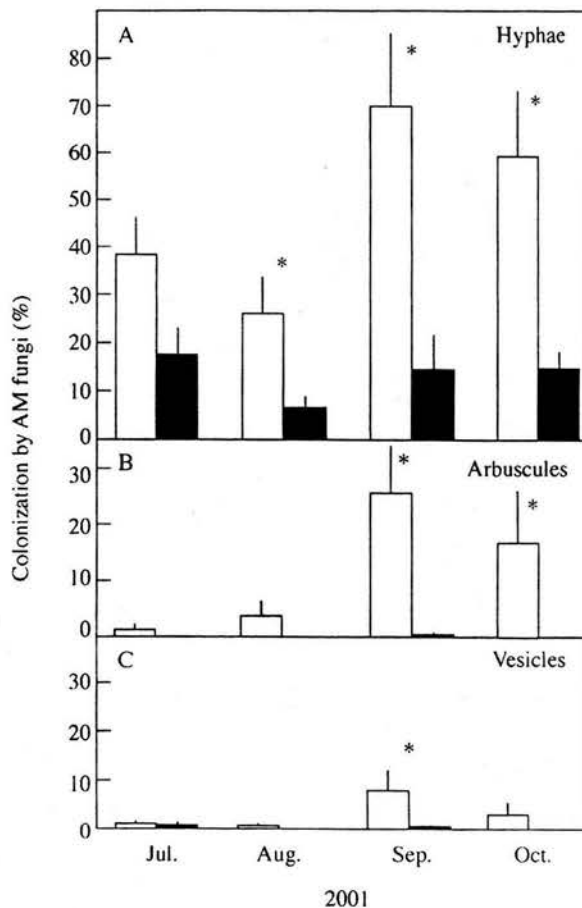


FIG. 2. Percentages of colonization by hyphae (A), arbuscules (B) and vesicles (C) of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi for roots of control (no benomyl, -B, open bars) and benomyl-treated (+B, filled bars) plants of *O. robusta* during 2001. Data are means ± s.e. (n = 5 plants). Asterisks indicate significant differences between treatments by *t*-test ($P < 0.05$).

The population of *O. robusta* under study did not develop new cladodes during 2000 but did so during 2001. In November 2001, 67 new cladodes occurred per ha; 6 months

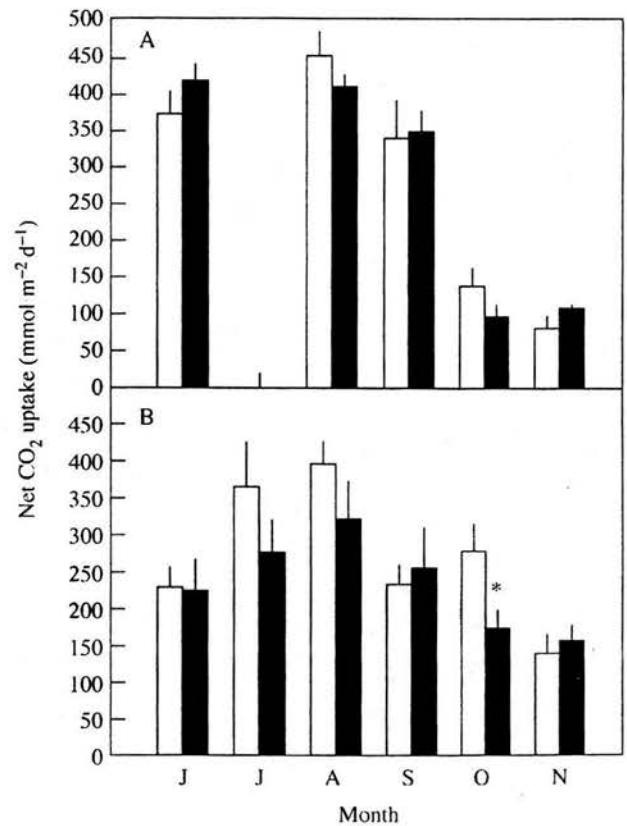


FIG. 3. Daily values of net CO₂ uptake for control (no benomyl, -B; open bars) and benomyl-treated (+B; filled bars) plants of *O. robusta* during 2000 (A) and 2001 (B) near El Rayo, Zacatecas, Mexico. Data are means ± s.e. (n = 5 plants). Asterisks indicate significant differences between treatments by *t*-test ($P < 0.05$).

later (May 2002), the number had risen to 400 new cladodes per ha.

DISCUSSION

Studies assessing the effectiveness of mycorrhizal symbiosis in the field are scarce and their findings are controver-

Table 2. Cladode water potential and phosphorus content in 2001 for plants of *Opuntia robusta* near El Rayo, Zacatecas, Mexico, untreated (-B) or treated (+B) with benomyl

Month	Water potential (MPa)		Cladode P content ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
	-B	+B	-B	+B
May	-3.11 \pm 0.31	-3.10 \pm 0.29	250 \pm 29	225 \pm 25
June	-2.72 \pm 0.40	-3.00 \pm 0.37	340 \pm 25	280 \pm 37
July	-0.67 \pm 0.06	-0.77 \pm 0.05	280 \pm 20	300 \pm 32
August	-1.07 \pm 0.04	-1.13 \pm 0.10	360 \pm 40	360 \pm 25
September	-0.69 \pm 0.20	-0.70 \pm 0.19	360 \pm 51	380 \pm 58
October	-0.72 \pm 0.02	-0.69 \pm 0.02	400 \pm 55	400 \pm 55
November	-0.70 \pm 0.02	-0.73 \pm 0.02	360 \pm 40	340 \pm 40

Data are means \pm s.e. ($n = 5$ plants). No significant difference occurred between -B and +B treatments (t -test).

sial (Fitter, 1985; Merryweather and Fitter, 1996; Smith and Read, 1997). Smith and Read (1997) cite field experiments that show that mycorrhizal colonization improves the survival of plants after short periods of exposure to drought, but have little effect over long periods, particularly in arid environments. The present findings show that the unfavourable climatic conditions during 2000, following a 6-year drought that began in 1994, affected the development of mycorrhizae, mainly because *O. robusta* responded to extreme drought by arresting root development as a strategy to avoid water loss. Therefore, the availability of colonizable host tissue (fine new roots) by AM-fungi was dramatically affected.

Rainfall created favourable conditions for growth of *O. robusta* during the summer and early autumn of 2001, expressed by the formation of both new cladodes and new roots. Under these conditions, AM-fungi colonized the roots of *O. robusta*, and benomyl was highly efficient in suppressing root colonization by AM-fungi. The effectiveness of benomyl in 2001 was favoured by the shallow soil at the study site and because the root system of *O. robusta* was confined to hollows and crevices, allowing the fungicide to readily cover the rhizosphere of the microsites explored by roots. This avoided problems of benomyl efficiency common to deep-rooted species, in which the fungicide fails to reach the target roots (Sanders and Fitter, 1992; Jakobsen *et al.*, 2001). The percentage suppression of root colonization by AM-fungi for *O. robusta* was about 70 % during 2001. This is one of the highest levels of suppression reported, which generally range from 4 to 80 % for other species (Merryweather and Fitter, 1996; Kahiluoto *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2000; Wilson *et al.*, 2001). Arbuscules, considered necessary for a nutritionally efficient symbiosis (Smith and Smith, 1996; Orcutt and Nilsen, 2000), were more affected by benomyl during 2001 than were hyphae or vesicles, consistent with previous findings for other species (Pedersen and Sylvia, 1997).

The suppression of root colonization by AM-fungi did not affect photosynthesis in *O. robusta* in 2000. In 2001, photosynthesis was unaffected from June to September, but a significant reduction in photosynthesis occurred in October. The reduction of daily carbon assimilation by benomyl in October occurred after the time of year when

colonization of fine roots by AM-fungi was highest. Therefore, mutualistic bidirectional transfer of nutrients between the fungal structures and the host was not detected until the end of the summer. Thus, suppression of mycorrhiza in the roots of +B plants during the summer apparently becomes physiologically evident in October.

Stem P content and stem water potential for *O. robusta* were similar in the +B and -B plants, indicating that the suppression of root colonization did not affect the foraging for soil resources. The highest values of carbon gain observed for -B plants in October could perhaps be caused by an increased sink strength arising from additional carbon demand to sustain the process of root colonization (Wright *et al.*, 1998), instead of the effect of an enhanced uptake of water and soil nutrients, as hypothesized. AM-fungi colonization may require the transfer of 4–20 % of total photoassimilates (Koch and Johnson, 1984; Douds *et al.*, 1998; Wright *et al.*, 1998).

Unexpectedly, daily carbon gain per unit of cladode area between spring and autumn was similar in 2000 and 2001 even though the rainfall was two-fold higher in 2001. Plants growing in nutrient-deficient environments often show conservative physiological patterns and are less plastic both morphologically and physiologically. Even when conditions are temporarily favourable, as occurred in 2001, such plants have slow growth and low rates of photosynthesis (Grime and Hunt, 1975; Valladares *et al.*, 2000; Pimienta-Barrios *et al.*, 2002b), which allow them to maintain growth and reproduction even during periods of low water availability (Grime, 1979; Chapin, 1980; Pimienta-Barrios and Nobel, 1995).

The soil at the field site is shallow and has a high sand content, leading to quick drainage and low water-holding capacity. Nevertheless, *O. robusta* could extract water from the soil even under these conditions, as the water potential of its stems in July 2001 approached that of well-hydrated CAM plants (Goldstein and Nobel, 1991; Lüttge, 1997). AM-fungal symbiosis can alter rates of water movement into host plants by several mechanisms, including an enhanced nutrition, increased mycorrhizal root surface area, stomatal regulation, lower resistance to water transport, hyphal water uptake and increased hydraulic conductivity (Safir *et al.*, 1971; Cui and Nobel, 1992; Ruiz-Lozano

and Azcón, 1995; Orcutt and Nilsen, 2000). However, benomyl treatment did not affect the stem water potential of *O. robusta* during 2001; a large capacitance may explain the absence of an effect of the suppression of AM-fungi on stem water potential, because transport of large volumes of water into the stem would be necessary before an appreciable change in stem water potential occurred.

Inhibition of AM-fungal colonization of *O. robusta* using benomyl did not affect photosynthesis, water uptake or P uptake under dry and wet conditions, revealing that the development of this CAM species in a highly stressful environment might be regulated by other physiological strategies and mechanisms, such as avoidance, tolerance and CAM metabolism, in addition to the mycorrhizal symbiosis, particularly under prolonged drought.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Luis Ortiz-Catedral, Javier García-Galindo, Julia Zañudo-Hernández and Joanna Acosta-Velásquez for field and laboratory assistance, and Pablo Torres Morán for statistical advice. CONACYT grant 28818-B, the University of Guadalajara, and the UCLA Council on Research financially supported this project.

LITERATURE CITED

- Barthlott W, Porembski S. 2000. Vascular plants on inselbergs: systematic overview. In: Porembski S, Barthlott W, eds. *Inselbergs*. Rostock: Springer, 103–116.
- Bremer H, Sander H. 2000. Inselbergs: geomorphology and geocology. In: Porembski S, Barthlott W, eds. *Inselbergs*. Rostock: Springer, 6–35.
- Carey PD, Fitter AH, Watkinson AR. 1992. A field study using the fungicide benomyl to investigate the effect of mycorrhizal fungi on plant fitness. *Oecologia* 90: 550–555.
- Chapin III FS. 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 233–260.
- Cui M, Nobel PS. 1992. Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 122: 643–649.
- Davies Jr FT, Potter JR, Linderman RG. 1993. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration – response in gas exchange and water relations. *Physiologia Plantarum* 87: 45–53.
- Douds Jr DD, Johnson CR, Koch KE. 1998. Carbon cost of the fungal symbiont relative to net leaf P accumulation in a split-root VA mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology* 86: 491–496.
- Estrada-Luna AA, Davies Jr FT, Egilla JN. 2000. Mycorrhizal fungi enhancement of growth and gas exchange of micropropagated guava plantlets (*Psidium guajava* L.) during *ex vitro* acclimatization and plant establishment. *Mycorrhiza* 10: 1–8.
- Fitter AH. 1985. Functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas under field conditions. *New Phytologist* 99: 257–265.
- Goldstein G, Nobel PS. 1991. Changes in osmotic pressure and mucilage during low-temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* 97: 954–961.
- Graham JH, Eissenstat DM. 1998. Field evidence for the carbon cost of citrus mycorrhizas. *New Phytologist* 140: 103–110.
- Grime JP. 1979. *Plant strategies and vegetation processes*. New York: Wiley.
- Grime JP, Hunt R. 1975. Relative growth-rate: its range and adaptive significance in a local flora. *Journal of Ecology* 69: 393–422.
- Jakobsen I, Gazey C, Abbot KL. 2001. Phosphate transport by communities of arbuscular mycorrhizal fungi in intact soil cores. *New Phytologist* 149: 95–103.
- Kahiluoto H, Ketoja E, Vestberg M. 2000. Creation of a non-mycorrhizal control for a bioassay of AM effectiveness. 1. Comparison of methods. *Mycorrhiza* 9: 241–258.
- Kluge M, Brulfert J. 2000. Ecophysiology of vascular plants on inselbergs. In: Porembski S, Barthlott W, eds. *Inselbergs*. Rostock: Springer, 143–174.
- Koch KE, Johnson CR. 1984. Photosynthate partitioning in split-root citrus seedlings with mycorrhizal and nonmycorrhizal root systems. *Plant Physiology* 75: 26–30.
- Lüttge U. 1997. *Physiological ecology of tropical plants*. New York: Springer-Verlag.
- McGonigle TP, Miller MH, Evans DG, Fairchild GL, Swan JL. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495–501.
- Medellín-Leal F. 1982. The Chihuahuan Desert. In: Bender GL, ed. *Reference handbook on the deserts of North America*. Westport: Greenwood Press, 321–381.
- Merryweather J, Fitter AH. 1996. Phosphorus nutrition of an obligately mycorrhizal plant treated with the fungicide benomyl in the field. *New Phytologist* 132: 307–311.
- Nobel PS, Pimienta-Barrios. 1995. Monthly stem elongation for *Stenocereus queretaroensis*: relationships to environmental conditions, net CO₂ uptake and seasonal variations in sugar content. *Environmental and Experimental Botany* 35: 17–24.
- Orcutt MD, Nilsen ET. 2000. *The physiology of plants under stress*. New York: John Wiley.
- Paul ND, Ayres PG, Wyness LE. 1989. On the use of fungicides for experimentation in natural vegetation. *Functional Ecology* 3: 759–769.
- Pedersen CT, Sylvia DM. 1997. Limitations to using benomyl in evaluating mycorrhizal functioning. *Biology and Fertility of Soils* 25: 163–168.
- Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of British Mycological Society* 55: 158–161.
- Pimienta-Barrios E. 1994. Prickly pear (*Opuntia* spp.): a valuable fruit crop for the semi-arid lands of Mexico. *Journal of Arid Environments* 28: 1–11.
- Pimienta-Barrios E, González del Castillo-Aranda ME, Nobel PS. 2002a. Ecophysiology of a wild platyopuntia exposed to prolonged drought. *Environmental and Experimental Botany* 47: 77–86.
- Pimienta-Barrios E, Pimienta-Barrios En, Salas-Galván ME, Zañudo-Hernández J, Nobel PS. 2002b. Growth and reproductive characteristics for the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis* and their relationships with environmental factors and colonization by arbuscular mycorrhizae. *Tree Physiology* 22: 667–674.
- Porembski S, Becker U, Seine R. 2000. Islands on islands: habitats on inselbergs. In: Porembski S, Barthlott W, eds. *Inselbergs*. Rostock: Springer, 49–67.
- Ruiz-Lozano JM, Azcón R. 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiologia Plantarum* 95: 472–478.
- Rzedowski J. 1978. *Vegetación de México*. Mexico City: LIMUSA.
- Safir GR, Boyer JS, Gerdermann G. 1971. Mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Science* 172: 581–583.
- Sanders IR, Fitter AH. 1992. The ecology and functioning of vesicular arbuscular mycorrhizas in coexisting grassland species. 2. Nutrient uptake and growth of vesicular arbuscular mycorrhizal plants in a seminatural grassland. *New Phytologist* 120: 525–533.
- Smith FA, Smith SE. 1996. Mutualism and parasitism: diversity in function and structure in the 'arbuscular' (VA) mycorrhizal symbiosis. In: Callow AJ, ed. *Advances in botanical research*. London: Academic Press, 1–43.
- Smith MD, Hartnett DC, Rice CW. 2000. Effects of long-term fungicide applications on microbial properties in tallgrass prairie soil. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 935–946.
- Smith SE, Read DJ. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd edn. Cambridge: Academic Press.
- Syvertsen JP, Graham JH. 1999. Phosphorus supply and arbuscular mycorrhizas increase growth and net gas exchange responses of two *Citrus* spp. grown at elevated CO₂. *Plant and Soil* 208: 209–219.
- Szarzynsky J. 2000. Xeric islands: environmental conditions on

- inselbergs. In: Porembski S, Barthlott W, eds. *Inselbergs*. Rostock: Springer, 37–48.
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Pearcy RW. 2000.** Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* **81**: 1925–1936.
- Wilson GWT, Hartnett DC, Smith MD, Kobbeman K. 2001.** Effects of mycorrhizae on growth and demography of tallgrass prairie forbs. *American Journal of Botany* **88**: 1452–1457.
- Wolf B, Mills HA, Jones Jr JB. 1991.** *Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide*. Athens: Micro Macro International.
- Wright DP, Read DJ, Scholes JD. 1998.** Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. *Plant, Cell and Environment* **21**: 881–891.
- Zar JH. 1999.** *Biostatistical analysis, 4th edn*. New Jersey: Prentice Hall.

7. DISCUSIÓN

En la Porción sur del Desierto Chihuahuense se estudiaron las especies *Opuntia cantabrigiensis*, *O. joconostle*, *O. leucotricha*, *O. rastrera*, *O. robusta* y *O. streptacantha* en las cuales no se observa variación en el número cromosómico entre las diferentes localidades muestreadas, en contraste con los recuentos obtenidos por Sosa y Acosta (1964), Yuasa *et al.* (1973) Pinkava *et al.* (1973; 1977; 1992); Pinkava y McLeod (1971) y Pinkava y Parfitt (1982). Por otro lado, los resultados del presente estudio no concuerdan con el recuento cromosómico en *O. cantabrigiensis* hecho por Yuasa *et al.* (1973) quien reporta individuos hexaploides y tetraploides, mientras que en la zona de estudio sólo se observaron individuos diploides.

Es factible que en las especies en las que no hay coincidencia en el número cromosómico con reportes previos, se deba a que existe un patrón de distribución específica para cada uno de los niveles de ploidía, de forma similar al que ocurre en *Larrea divaricata* var. *Tridentata*. En esta especie se observa una adaptación de tres citotipos diferentes ($2x$, $4x$ y $6x$) y se registran adaptaciones a condiciones edáficas, precipitación pluvial y a las temperaturas invernales (Lewis, 1980; Ehrendorfer, 1980). Patrones de distribución similar se han registrado en *Buchloë dactyloides*, *Camerino angustifolium*, *Berberis* spp. (Husband y Schemske, 1998; McArthur y Sanderson, 1999; Bottini *et al.*, 2000; Johnson *et al.*, 2001).

Por lo cual podemos deducir que en la porción sur del desierto Chihuahuense no es zona de contacto de diferentes niveles de ploidía entre las especies, como lo podría ser el centro de México para *O. robusta* según recuentos de Sosa y Acosta (1964). Es posible que los poliploides podrían tener una distribución alopátrica.

Por otra parte, *O. robusta* $2n=4x=44$ es especie predominante en los suelos rocosos, mientras que *O. streptacantha* $2n=8x=88$ es la más abundante aunque solo se presenta en laderas de los cerros y en suelos aluviales. Sin embargo, sus densidades son consideradas bajas excepto *O. streptacantha* si se comparan con las densidades obtenidas por Esparza-Olguín y Valverde; 2003. Probablemente porque la helada registrada en diciembre de 1997 provocó la mortandad de individuos de estas especies (Flores y Yeaton, 2003) y pudo ser más perjudicial para las especies diploides, tetraploides y hexaploides que para la octoploide ya que al parecer el incremento en poliploidía aumenta la resistencia al frío en este género (Stockwell, 1935 y Flores-Hernández *et al.*, 1988).

Estos patrones de distribución se deben a que los poliploides poseen altos niveles de diversidad genética, generados por la formación recurrente de la ploidía de diferentes progenitores diploides (Leitch y Bennett, 1997; Segraves *et al.*, 1999; Cook *et al.*, 1998; Soltis y Soltis, 2000) y por rearrreglos del genoma que contribuyen a incrementar esta diversidad (Leitch y Bennett, 1997), generando cambios que alteran la citología, bioquímica, genética y el desarrollo del individuo facilitando la introducción de características novedosas sin desplazar adaptaciones exitosas (McArthur y Sanderson, 1999). Como consecuencia del aumento de diversidad genética en los poliploides se incrementa la amplitud de tolerancia ecológica en comparación a sus progenitores diploides (McArthur y Sanderson, 1999). Los poliploides tienen otras ventajas ecológicas importantes tales como menor depresión por endogamia y mayor autocompatibilidad. En el caso de *Opuntia*, al igual que otros poliploides, la propagación vegetativa mantiene combinaciones genéticas y niveles de ploidía particulares para desarrollar poblaciones densas y colonizar nuevas áreas (Li *et al.*, 1996; Bottini *et al.*, 2000; Soltis y Soltis, 2000; Rebman y Pinkava, 2001).

Otros efectos de la poliploidización es el incremento en el tamaño celular, provocando gigantismo en los organismos poliploides tanto en partes vegetativas como reproductivas (Lewis, 1980; Zeven, 1980); así por ejemplo, en el aguacate las plantas tetraploides son más vigorosas que las plantas diploides (García, 1975). Igualmente, se ha registrado incremento de tamaño de los granos de polen, frutos, hojas y, particularmente, de estomas, además de la disminución su densidad. Este último ha sido utilizado para identificar de manera indirecta niveles de ploidía (Einset y Pratt, 1962; Lewis, 1980; Levin, 2002).

Sin embargo, en este trabajo no se observó tal tendencia en el tamaño de los estomas, puesto que *O. streptacantha* ($2n=8x=88$) se registró un área de estomas menor que el de las especies hexaploides y tetraploides. No obstante, *O. catabrigiensis* ($2n=2x=22$) es la especie con los estomas de menor tamaño. Por lo cual no siempre se observa el incremento en el tamaño de algunos atributos en las plantas con mayor nivel de ploidía, incluso los citotipos diploides de *Artemisia* sp. son de mayor tamaño que los citotipos tetraploides (McArthur y Sanderson, 1999).

Por otro lado, existe gran variación en el tamaño de los estomas en *O. streptacantha* ya que el área estomática fluctuó entre 724 y 1247 μm^2 y en *O. rastrera* entre 919 y 1383 μm^2 . Esta variación no se debe a diferencias en el nivel de ploidía ya que como anteriormente se mencionó no existió variación en el número cromosómico de estas especies en la zona de estudio.

La variación en el tamaño y densidad de los estomas puede ser afectada por factores ambientales. Por un lado, la densidad estomática se incrementa con la elevación como una respuesta de aclimatación para restringir la pérdida de agua en elevaciones altas, incrementos de temperatura o por desarrollarse en sitios con elevadas concentraciones de CO_2 (Schoettle y Rochelle, 2000; Stenström *et al.*, 2002); o por las condiciones microclimáticas durante la época de maduración de la hoja, la edad de la misma y si los estomas provienen de tallos vigorosos su posición en el dosel y en algunos casos el sexo de las plantas (Chen *et al.*, 2000, Lake *et al.*, 2002).

En las especies *O. cantabrigiensis*, *O. rastrera* y *O. streptacantha* el largo, ancho, área o densidad de estomas esta correlacionada de manera positiva con la temperatura media anual y la precipitación pluvial, y esto se debe a que la frecuencia tamaño y disposición de los estomas, esta relacionada con la transpiración (Health, 1981).

La variación morfológica registrada entre las especies, evidencia que no hay fenotipos intermedios entre especies que pueden ser considerados como híbridos interespecíficos (Baker y Pinkava, 1978, Griffith, 2001; Rebman y Pinkava 2001). Asimismo, la variación entre poblaciones reveló, que existe una ligera variación entre las poblaciones estudiadas que responde a un gradiente de precipitación y temperatura, esta es aproximadamente monotónica y se asocia a las siguientes variables: densidad de estomas, grosor de epidermis y grosor de colénquima. Cabe mencionar que estas variables no muestran plasticidad fenotípica puesto que no son modificadas por el ambiente según el experimento llevado a cabo por Ramírez y Pimienta (1995), en el cual plantaron diferentes especies de *Opuntia* en jardines experimentales en diferentes ambientes.

Las diferencias encontradas marcan la posibilidad de que existan procesos de selección para la formación de ecotipos en las diferentes poblaciones, además las especies *O. cantabrigiensis*, *O. leucotricha* y *O. streptacantha* mostraron al menos una población disyunta al resto de las poblaciones muestreadas, por lo cual es probable que el aislamiento

geográfico, las diferencias en temperatura y precipitación y el tamaño reducido de las poblaciones facilite la formación de ecotipos (Linhart y Grant, 1996).

Por otro lado, cuando se llevaron a cabo cruza entre diferentes poblaciones de *O. streptacantha* se detectó cierto grado de aislamiento reproductivo, de tal forma se puede asumir que existen diferencias genéticas entre poblaciones. Este patrón de variación genética puede ser explicado, considerando que la ploidía promueve la evolución de complejos de genes coadaptados en ambientes muy localizados. Estos complejos de genes comúnmente producen gran variación entre poblaciones fragmentadas produciendo grandes diferencias en combinaciones de genes coadaptados en cada población (Dudash y Fenster 2000).

Se sabe que en poblaciones pequeñas aisladas, los individuos pueden estar sujetos al incremento de endogamia y a pérdida de la variación genética (Ellstrand y Elam, 1993, Delgado *et al.*, 1999; Aguirre-Planter *et al.*, 2000). Este aislamiento puede causar adaptación local a variaciones ambientales o, a la coadaptación de genes en diferentes loci por interacciones epistáticas favorables entre los genes de diferentes loci (Quilinchí *et al.*, 2001, Montalvo y Ellstrand, 2001). Estudios en poblaciones silvestres muestran que las cruza entre poblaciones de la misma especie geográficamente distantes resultan en la reducción de la producción de semillas (aislamiento pre-cigótico), o depresión por exogamia que se expresa como el decremento en la adecuación de la progenie (aislamiento post-cigótico) (De Netancourt, 1977; Waser y Price, 1991; Baker y Shore, 1995; Hauser y Siegismund, 2000; Quilinchí *et al.*, 2001; Montalvo y Ellstrand, 2001, Waser y Williams, 2001).

Por lo cual debe suponerse que existe evidencia de que hay diferencias genéticas en las poblaciones, no solo por las diferencias estructurales en algunas de ellas, sino también porque existe aislamiento reproductivo cuando se llevan a cabo cruza entre poblaciones aisladas, además de que algunas de ellas se caracterizan por su tamaño reducido. Es probable que estas diferencias ocasionen fenómenos como deriva genética puesto que existen condiciones para que este proceso se lleve a cabo como lo es el aislamiento entre poblaciones y sobre todo que algunas de ellas son de tamaño reducido (Futuyma, 1997; Briggs y Walters, 1997). Este es el caso de *O. cantabrigiensis* que es una especie que por su poco uso por los pobladores de las zonas está siendo eliminada de las llanuras aluviales y

suelos someros y en la actualidad comúnmente las observamos en afloramientos rocosos llamados “inselberg”.

Los afloramientos rocosos son ambientes muy estresantes debido a la baja disponibilidad de agua y nutrientes minerales (Lüttge, 1997; Kluge y Brulfert, 2000, Porembski *et al.*, 2000; Szarzynsky, 2000). Condiciones que favorecen el establecimiento de simbiosis y actividad de hongos micorrizicos (Smith y Read, 1997; Orcutt y Nielsen, 2000). Bajo estas circunstancias los hongos-Versículo Arbusculares (VA) podrían mejorar la tolerancia a la sequía de las plantas hospederas. Sin embargo, en periodos prolongados de sequía *O. robusta* no produjo raíces y cladodios nuevos, por lo cual posiblemente no se llevó a cabo colonización de los hongos-VA.

En el otoño del 2001, periodo en el cual la lluvia creo condiciones para la formación de raíces colonizables por hongos-VA. Cuando se aplicó Benlate, se observó supresión de la colonización de los hongos VA hasta en un 70% inhibiendo así la formación de arbusculos los cuales están asociados con el intercambio de fósforo, calcio, magnesio y carbón orgánico (Smith y Smith, 1996; Orcutt y Nielsen, 2000). No obstante no se observaron diferencias en el contenido de P, el potencial hídrico del tallo y la fotosíntesis en comparación con el testigo, salvo en la fotosíntesis durante el mes de octubre de 2001.

La ganancia de carbón entre un año de sequía extrema como 2000 y un año con lluvia como 2001 no muestra diferencia en la ganancia de carbono diario. Esto indica baja plasticidad fisiológica y morfológica ya que estas plantas manifiestan patrones fisiológicos conservadores que les permiten seguir creciendo en periodos donde la disponibilidad de agua es baja (Grime, 1979; Chapin, 1980; Pimienta-Barrios y Nobel, 1995).

El crecimiento lento, así como sus bajas tasas de asimilación de CO₂, permiten a estas plantas distribuirse tanto en suelos aluviales como afloramientos rocosos. Sin embargo, es necesario continuar los estudios en opuntias para dilucidar si existen ecotipos según el tipo de sustrato donde se distribuyen o si el crecimiento lento es una respuesta característica de las plantas de zonas semiáridas.

· 7.1. LITERATURA CITADA

- Aguirre-Planter, E., G. R. Furnier y L. E. Eguiarte. 2000.** Low levels of genetic variation within and high levels of genetics differentiation among populations of species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala. *American Journal of Botany* 87 (3): 362-371.
- Baker, M. A. y J. S. Shore. 1995.** Pollen competition in *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *American Journal of Botany* 82 (6): 717-725.
- Baker, M. A. y D. J. Pinkava. 1987.** A cytological and morphometric analysis of a triploid apomict, *Opuntia xkelvinensis* (Subgenus cylindropuntia, Cactaceae). *Brittonia* 39 (3): 387-401.
- Bottini, M. C. J., E. J. Greizerstein, M. B. Aulicino y L. Poggio. 2000.** Relationships among genome size, environmental conditions and geographical distribution in natural populations of NE Patagonian species of *Berberis* L. (Berberidaceae). *Annals of Botany* 86 (3): 565-573.
- Briggs, E. y S. M. Walters 1997.** *Plant variation and evolution*. Cambridge University Press. United Kingdom.
- Chapin III, F. S. 1980.** The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematic* 11: 233-260.
- Chen, L., C. Li, W. G. Chaloner, D. J. Beerling, Q. Sun, M. E. Collinson y P. L. Mitchell. 2001.** Assessing the potential for the stomatal characters of extant and fossil *Ginkgo* leaves to signal atmospheric CO₂ change. *American Journal of Botany* 88 (7): 1309-1315.
- Cook, L. M., P. S. Soltis, S. J. Brunfeld y D. E. Soltis. 1998.** Multiple independent formations of *Tragopodon* tetraploides (Asteraceae): evidence from RAPD markers. *Molecular Ecology* 7: 1293-1302.
- De Nettancourt, D. 1977.** *Incompatibility in Angiosperms*. Monographs on Theoretical and Applied Genetics 3. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg and New York.
- Delgado, P., D. Piñero, A. Chaos, N. Pérez-Nasser y E. R. Alvarez Buylla. 1999.** High population differentiation and genetic variation in the endangered Mexican pine *Pinus rzedowskii*. *American Journal of Botany* 86 (5): 669-676.

- Dudash, M. R. y C. B. Fenster. 2000.** Inbreeding and outbreeding depression in fragmented populations. En: Young, A. y G. M. Clarke (eds.). *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations*. Conservation Biology. Cambridge University Press, Cambridge United Kingdom pp: 35-54.
- Ehrendorfer, F. 1980.** Polyploidy and distribution. En: Lewis, W. H. (ed.). *Polyploidy. Biological Relevance Plenum*. New York. pp: 45-60.
- Einset, J. y C. Pratt. 1962.** Polyploidy in apple breeding. *Journal of American Society of Horticultural Science* 83: 107-112.
- Ellstrand, N. C. y D. R. Elam. 1993.** Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review in Ecology and Systematics* 24: 217-242.
- Esparza-Olguín, L. y T. Valverde. 2003.** Estudio comparativo de la fenología de tres especies de *Neobuxbaumia* que difieren en su nivel de rareza. *Cactáceas y suculentas Mexicanas* (48)3:68-88.
- Flores-Hernández, A., F. Borrego-Escalante, H, Gómez Contreras y A. López Benítez. 1988.** Variabilidad y estudio cromosómico del nopal (*Opuntia* spp.). *Cactáceas y suculentas Mexicanas* XXXIII:91-97.
- Flores, J. L. Y R. I. Yeaton. 2003.** The replacement of arborescent cactus species along a climatic gradient in the southern Chihuahuan Desert: comparative hierarchies and response to freezing temperatures. *Journal of Arid environments* 55:583-594.
- Futuyma, D. J. 1997.** *Evolutionary biology*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland Massachusetts U. S. A.
- García, V. A. 1975.** Cytogenetic studies in the genus *Persea* (Lauraceae) I. Karyology of seven species. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 17: 173-180.
- Griffith, M. P. 2001.** A new Chihuahuan desert hybrid prickly pear, *Opuntia xrooneyi* (Cactaceae). *Cactus and Succulent Journal (U. S. A.)* 73 (6): 307-310.
- Grime, J. P. 1979.** *Plant strategies and vegetation processes*. Wiley, New York, U. S. A.
- Hauser, T. P. y H. R. Siegismund. 2000.** Inbreeding and outbreeding effects on pollen fitness and zygote survival in *Silene nutans* (Caryophyllaceae). *Journal of Evolutionary Biology* 13: 446-454.
- Heath, O. V. S. 1981.** *Stomata*. Ed. Burlington, North Carolina USA.

- Husband, B. C. y D. W. Schemske. 1998.** Cytotype distribution at a diploid-tetraploid contact zone in *Chamerion (Epilobium) angustifolium* (Onagraceae). *American Journal of Botany* 85 (12): 1688-1694.
- Johnson, P. G., K. E. Kenworthy, D. L. Auld y T. P. Riordan. 2001.** Distribution of Buffalograss polyploid variation in the southern great plains. *Crop Science* 41: 909-913.
- Kluge, M. y J. Brulfert. 2000.** Ecophysiology of vascular plants on inselbergs. En: Porembski S, Bartholtt W (eds.) *Inselbergs*. Rostock: Springer, Heidelberg pp: 143-174.
- Lake, J. A., F. I. Woodward y W. P. Quick. 2002.** Long-distance CO₂ signalling in plants. *Journal of Experimental Botany* 53 (367): 183-193.
- Leitch, I. J. y M. D. Bennett. 1997.** Polyploidy in angiosperms. *Trends in Plant Science* 2 (12): 470-476.
- Levin, D. A. 2002.** *The role of chromosomal change in plant evolution*. Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford Press University. New York, U. S. A.
- Lewis, W. H. 1980.** Polyoploidy in species populations. En: Lewis, W. H. (ed.). *Poliploidy. Biological Relevance Plenum*. New York. pp: 103-144.
- Li, W. G., G. P. Berlyn y P. M. S. Ashton. 1996.** Polyploids and their structural and physiological characteristics relative to water deficit in *Betula papyrifera* (Betulaceae). *American Journal of Botany* 83 (1): 15-20.
- Linhart, Y. B. y M. C. Grant. 1996.** Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:237-277.
- Lüttge, U. 1997.** *Physiological ecology of tropical plants*. Springer-Verlag, Heidelberg New York.
- McArthur, E. D. y S. C. Sanderson. 1999.** Cytogeography and chromosome evolution of subgenus *Tridentatae* of *Artemisia* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 86 (12): 1757-1775.
- Montalvo, A. M. y N. C. Ellstrad. 2001.** Nonclonal transplantation and outbreeding depression in the subshrub *Lotus scoparius* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 88 (2): 258-269.

- Orcutt, M. D. y E. T. Nilsen. 2000.** *The physiology of plants under stress*. John Wiley. New York, U. S. A.
- Pimienta-Barrios, E. y P. S. Nobel. 1995.** Monthly stem elongation for *Stenocereus queretaroensis*: relationships to environmental conditions, net CO₂ uptake and seasonal variations in sugar content. *Environmental and Experimental Botany* 35: 17-24.
- Porembski, S., U. Becker y R. Seine. 2000.** Islands on islands: habitats on inselbergs. En: Porembski S, Bartholt W (eds.). *Inselbergs*. Rostock: Springer. Heidelberg pp: 49-67.
- Quilinchí, A., M. Debussche y J. D. Thompson. 2001.** Evidence for local outbreeding depression in the Mediterranean island endemic *Anchusa crispa* Viv. (Boraginaceae) *Heredity* 87: 190-197.
- Ramírez, A. J. P. y E. Pimienta B. 1995.** El efecto del grado de aridez en la anatomía de cladodios de morfoespecies de nopal (*Opuntia* spp). En: Pimienta-Barrios E., C. Neri-Luna, A. Muñoz-Urias y F.M. Huerta-Martínez (comp.). *Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Memorias del 6to. Congreso Nacional y 4to Congreso Internacional*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. México. pp: 90-99.
- Rebman, J. P. y D. J. Pinkava. 2001.** *Opuntia* cacti of North America—an overview. *Florida Entomologist* 84 (4): 474-483.
- Schoettle, A. W. y S. G. Rochelle. 2000.** Morphological variation of *Pinus flexilis* (Pinaceae), a bird-dispersed pine, across a range of elevations. *American Journal of Botany* 87 (12): 1797-1806.
- Segraves, K. A., J. N. Thompson, P. S. Soltis y D. E. Soltis. 1999.** Multiple origins of polyploidy and the geographic structure of *Heunhera grossulariifolia*. *Molecular Ecology* 8: 253-262.
- Smith, F. A. y S. E. Smith. 1996.** Mutualism and parasitism: diversity in function and structure in the "arbuscular" (VA) mycorrhizal symbiosis. En: Callow A. J. (ed.). *Advances in Botanical Research*. Academic Press. London. pp: 1-43.
- Smith, S. E. y D. J. Read. 1997.** *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. Cambridge.
- Soltis, P. S. y D. E. Soltis. 2000.** The role of genetic and genomic attributes in success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (13): 7051-7057.

- Sosa, R. y A. Acosta. 1966.** Poliploidia en *Opuntia* spp. *Agrociencia* 1: 100-106.
- Stenström, A., I. S. Jónsdóttir y M. Augner. 2002.** Genetic and environmental effects on morphology in clonal sedges in the Eurasian Arctic. *American Journal of Botany* 89 (9): 1410-1421.
- Stockwell, P. 1935.** Chromosome numbers of some of the Cactaceae. *Botanical Gazette* CXVII: 33-37.
- Szarzynsky, J. 2000.** Xeric islands: environmental conditions on inselbergs. In: Porembski S, Bartholtt W (eds.). *Inselbergs*. Rostock: Springer, Heindelberg. pp: 37-48.
- Waser, N. M. y M. V. Price. 1991.** Outcrossing distance effects in *Delphinium nelsonii*: pollen loads, pollen tubes and seed set. *Ecology* 72 (1): 171-179.
- Waser, N. M. y C. F. Williams. 2001.** Inbreeding and outbreeding. En: Fox, C.W., D.A. Roff y D.J. Fairbairn (eds.). *Evolutionary Ecology Concepts and Cases Studies*. Oxford University Press. U. S. A.
- Yuasa, H., H. Shimizu, S. Kashiwai y N. Kondo. 1973.** Chromosome numbers and their bearing on the geographic distribution in the subfamily Opuntioideae (Cactaceae). *Report of the Institute for Breeding Research, Tokyo University of Agriculture* 4: 1-10 (English summary).
- Zeven, A. C. 1980.** Polyploidy and plant domestication: the origin and survival of polyploids in cytotype mixtures. En: Lewis, W. H. (ed.). *Polyploidy Biological Relevance Plenum*. New York. pp: 385-407.